

N° d'ordre :003

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences vétérinaires

Mémoire de fin d'études

Pour l'obtention du **diplôme de Master** en
Sciences Vétérinaires

Détection des bactéries gastro-spiralées chez le chien par technique histologique.

Présenté par :

Melle : BOUHDIDA Marwa

Melle : AROUS Rania

Soutenu publiquement, le 30 juin 2024 devant le jury :

| | | |
|---------------------|-------------------|--------------|
| M BAROUDI Djamel | Professeur (ENSV) | Président |
| Mme GUESSOUM Meryem | MCB (ENSV) | Promotrice |
| Mme BAAZIZI Ratiba | MCA (ENSV) | Examinatrice |
| Mme MIMOUNE Noura | Professeur (ENSV) | Examinatrice |

Année universitaire 2023-2024

Remerciements

Nous exprimons nos sincères remerciements à notre promotrice, Dr. **Meryem GUESSOUM**, Maître de conférences à l'École Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger, pour son encadrement précieux, sa disponibilité et sa gentillesse. Nous lui sommes reconnaissants pour la confiance qu'elle nous a accordée et le soutien moral qu'elle nous a apporté tout au long de ce travail.

Nos sincères remerciements vont au Professeur **Djamel BAROUDI** pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant de présider le jury de cette thèse.

Nous tenons également à remercier chaleureusement Dr. **Ratiba BAAZIZI**, membre du jury, pour avoir consacré du temps à l'évaluation de ce travail.

Nos vifs remerciements au Professeur **Noura MIMOUNE** pour son engagement, et le temps précieux qu'elle a consacré à évaluer notre projet.

Nous tenons aussi à remercier monsieur **KEDDOR .R**, chef de laboratoire d'histopathologie à l'École Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger, Pour nous avoir accueillie dans son équipe et pour nous avoir fourni les ressources nécessaires à la conduite de cette étude. Et Dr. **CHAFFA .I**, Chef département d'anatomie pathologique vétérinaire à PASTEUR, qui nous a reçus à bras ouverts et nous a pas lésiné sur les informations nécessaires.

Enfin, un grand merci à madame **Haifa**, Directrice de l'organisation Billy pour la compassion, l'humanité et l'empathie (BCHE) pour avoir généreusement facilité l'accès à son association et pour avoir fourni les prélèvements nécessaires à cette étude.

On remercie chaleureusement tous les enseignants de l'école nationale supérieure vétérinaire d'Alger qui grâce à leurs enseignements j'ai pu arriver à cela.

J'adresse toute ma gratitude à tous mes amis et à toutes personnes qui m'ont aidée dans la réalisation de ce travail.

Marwa et Rania

Dédicace

À mes parents,

Pour leur amour inconditionnel.

À ma sœur et à mes frères,

Pour leur présence réconfortante.

À mes amies,

Pour leur amitié précieuse.

À toutes les personnes qui m'aiment, de près ou de loin.

Ranía

Dédicace

À mes très chers parents,

*Qui m'ont doté d'une éducation digne, leur amour a fait de moi ce que
je suis aujourd'hui.*

À mon cher frère et ma chère sœur,

Source de joie et de bonheur.

À tous mes amis,

*Source d'aide et d'encouragement tout au long de mon parcours
académique.*

Marwa

Liste des figures :

| Numéro de figure | <u>Titre</u> | <u>Pagination</u> |
|-------------------------|--|--------------------------|
| Figure 1 | Histologie générale de la paroi du tube digestif. | 22 |
| Figure 2 | Schéma d'histologie de l'estomac. | 245 |
| Figure 3 | Différentes structures d' <i>Helicobacter spp.</i> | 289 |
| Figure 4 | Schéma synthétique présentant les différents facteurs de virulence pouvant être mis en jeu par les vibrions au cours de l'infection. | 35 |
| Figure 5 | Réaction du PAS sur une coupe histologique gastrique. | 40 |
| Figure 6 | Anticorps anti-collagène de type I valide par IHC. | 41 |
| Figure 7 | Appareil de circulation. | 45 |
| Figure 8 | Appareil d'enrobage. | 51 |
| Figure 9 | Microtome. | 51 |
| Figure 10 | Bain marie. | 51 |
| Figure 11 | Plaque congelée. | 51 |
| Figure 12 | Étuve. | 51 |
| Figure 13 | Appareil de déparaffinage. | 51 |
| Figure 14 | Appareil de montage et coloration. | 51 |
| Figure 15 | Microscope optique. | 51 |
| Figure 16 | Incubateur. | 52 |
| Figure 17 | Incubateur. | 52 |
| Figure 18 | Répartition des sujets selon la présence ou non de lésions macroscopiques. | 53 |
| Figure 19 | Estomac de chien après autopsie sans son aspect externe (A) et son aspect interne physiologique (Photos personnelles). | 54 |
| Figure 20 | Estomac d'un chien avec des congestions gastriques signe d'une Gastrite (Photo personnelle). | 54 |
| Figure 21 | Estomac d'un chien avec de petits ulcères gastriques (B) et avec ulcération profondes (A) (Photo personnelle). | 55 |
| Figure 22 | Figure de la muqueuse gastrique normale (-A- aspect macroscopique et -B- aspect microscopique) (photos personnelles). | 56 |
| Figure 23 | Figure de différents degrés de gastrite. | 56 |

| | | |
|------------------|--|----|
| Figure 24 | Présence de débits tissulaires avec follicule et un effacement de de la muqueuse gastrique d'un chien (photos personnelles). | 57 |
| Figure 25 | Infiltrations de neutrophiles dans la muqueuse gastrique d'un chien (photos personnelles). | 57 |
| Figure 26 | Coupe histologique colorées à l'hématoxyline-éosine (photos personnelles). | 58 |
| Figure 27 | Muqueuse gastrique montrant plusieurs organismes gastro spiralées (HE, ×20) (photo personnelle). | 59 |

Liste des tableaux :

| Numéro de tableau | <u>Titre</u> | <u>Pagination</u> |
|--------------------------|--|--------------------------|
| Tableau 1 | Exemples d'espèces <i>Helicobacter</i> sélectionnées signalées chez des hôtes animaux. | 29 |
| Tableau 2 | Espèces de <i>Campylobacter</i> , leurs hôtes principaux correspondants, et l'association de maladies chez les animaux et les humains. | 32 |
| Tableau 3 | Degré de gastrite chez les chiens après étude histopathologique (n = 20). | 52 |

Liste des annexes :

| Numéro d'annexe | <u>Titre</u> | <u>Pagination</u> |
|------------------------|---|--------------------------|
| Annexe 1 | Fiche de renseignement. | 47 |
| Annexe 2 | Fiche technique de coloration HE (hemalun éosine) | 48 |

Résumé

Cette étude a été menée sur des prélèvements des différents compartiments d'estomac des chiens par l'utilisation de technique d'Histopathologie. Pour cela, 10 chiens de race et d'âge différents ont fait l'objet de notre expérimentation qui s'est déroulée au sein laboratoire d'anatomo-pathologie à l'ENSV.

Sur un total de **10** échantillons examinés, **02/10** présentaient un aspect lésionnel dont une seule **01/02** présente de bactéries gastro-spiralées. De manière significative, aucune corrélation positive n'a été observée entre l'étendue des lésions gastriques macroscopiques et la présence de bactéries spiralées. En outre, des bactéries gastro-spirales ont été détectées dans un estomac présentant une histologie normale, mettant en évidence la possibilité de colonisation asymptomatique.

Ces résultats soulignent l'importance de recherches supplémentaires pour comprendre les mécanismes de colonisation et l'impact clinique potentiel de ces bactéries chez les chiens.

Une augmentation de la taille de l'échantillon est recommandée pour renforcer la validité statistique des conclusions et pour mieux généraliser les résultats à une population plus large de chiens.

Mots clés : Chiens, estomac, histopathologie, coupe, lésions gastriques.

Abstract

This study was carried out on samples from the different stomach compartments of dogs using histopathology techniques. For this, **10** dogs of different breeds and ages were the subject of our experiment which took place in the anatomo-pathology laboratory at the ENSV.

Out of a total of **10** samples examined, **02/10** presented a lesional appearance, of which only one **01/02** showed gastro-spiral bacteria. Significantly, no positive correlation was observed between the extent of macroscopic gastric lesions and the presence of spiral bacteria. Additionally, gastros spiral bacteria were detected in a stomach with normal histology, highlighting the possibility of asymptomatic colonization.

These results highlight the importance of additional research to understand the colonization mechanisms and potential clinical impact of these bacteria in dogs.

An increase in sample size is recommended to strengthen the statistical validity of the findings and to better generalize the results to a broader population of dogs.

Key words: Dogs, stomach, histopathology, section, gastric lesions.

ملخص

أجريت هذه الدراسة على عينات من أجزاء المعدة المختلفة للكلاب باستخدام تقنيات التشريح المرضي. لهذا الغرض، كانت 10 كلاب من سلالات وأعمار مختلفة موضوع تجربتنا التي أجريت في مختبر التشريح المرضي في المدرسة الوطنية العليا بالجزائر.

من إجمالي 10 عينات تم فحصها، أظهر 10/02 مظهر آفة، منها واحدة فقط 02/01 أظهرت بكتيريا معدية حلزونية. بشكل ملحوظ، لم يلاحظ أي ارتباط إيجابي بين مدى آفات المعدة العيانية ووجود البكتيريا الحلزونية. بالإضافة إلى ذلك، تم اكتشاف البكتيريا المعوية في معدة ذات أنسجة طبيعية، مما يسלט الضوء على إمكانية الاستعمار بدون أعراض. تسلط هذه النتائج الضوء على أهمية إجراء أبحاث إضافية لفهم آليات الاستعمار والتأثير السريري المحتمل لهذه البكتيريا في الكلاب.

يوصى بزيادة حجم العينة لتعزيز الصلاحية الإحصائية للنتائج ولتعميم النتائج بشكل أفضل على مجموعة أكبر من الكلاب.

الكلمات المفتاحية: الكلاب، المعدة، التشريح المرضي، القسم، آفات المعدة.

Table de matières

| | |
|--|-----------|
| TABLE DE MATIÈRES | 8 |
| INTRODUCTION | 13 |
| SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE | 15 |
| I. GÉNÉRALITÉ SUR LE TUBE DIGESTIF DE CHIEN | 16 |
| I.1. RAPPEL ANATOMIQUE DU TUBE DIGESTIF | 16 |
| I.2. HISTOLOGIE DU TUBE DIGESTIF | 19 |
| I.2.1. Organisation générale | 19 |
| I.2.2. Histologie de l'estomac..... | 21 |
| II. BACTÉRIES SPIRALÉES DE TUBE DIGESTIF DE CHIEN | 25 |
| II.1. LA FLORE BACTERIENNE CHEZ LE CHIEN | 25 |
| II.2. LES BACTERIES SPIRALEES DU TUBE DIGESTIF : | 27 |
| II.2.1. <i>Helicobacter</i> | 27 |
| II.2.2. <i>Campylobacter</i> | 30 |
| II.2.3. Autres bactéries | 32 |
| III. LES TECHNIQUES DE DIAGNOSTIQUE HISTOLOGIQUE | 36 |
| III.1. PREPARATION DES PRELEVEMENTS..... | 36 |
| III.1.1. Les prélèvements..... | 36 |
| III.1.2. Fixation..... | 36 |
| III.1.3. Inclusion | 37 |
| III.1.4. Coupe..... | 37 |
| III.1.5. Coloration | 37 |
| III.1.6. Montage | 38 |
| III.2. TECHNIQUES DE DETECTION IN SITU | 38 |
| III.2.1. Histochimie | 38 |
| III.2.2. Histochimie enzymatique | 39 |
| III.2.3. Immunohistochimie – Immunocytochimie..... | 39 |
| III.2.4. L'hybridation in situ..... | 40 |
| III.2.5. Autoradiographie..... | 41 |
| PARTIE EXPÉRIMENTALE | 42 |

| | |
|--|-----------|
| I. MATÉRIEL ET MÉTHODES | 43 |
| I.1. TYPE ET PERIODE D'ETUDE..... | 43 |
| I.2. NOMBRE DE PRELEVEMENTS | 43 |
| I.3. MATERIELS UTILISES | 44 |
| I.3.1. Matériels biologiques..... | 44 |
| I.3.2. Matériels non biologiques | 45 |
| I.3.3. Appareillages..... | 45 |
| I.4. METHODES..... | 46 |
| I.4.1. Réalisation des Fragments de muqueuse gastrique | 46 |
| I.4.2. Déshydratation..... | 46 |
| I.4.3. Imprégnation | 47 |
| I.4.4. Inclusion (Enrobage)..... | 47 |
| I.4.5. Microtomie (coupe) | 47 |
| I.4.6. Déparaffinage et Réhydratation..... | 48 |
| I.4.7. Coloration..... | 48 |
| I.4.8. Montage | 49 |
| I.5. EXAMEN MICROSCOPIQUE..... | 51 |
| II. RÉSULTATS ET DISCUSSION | 52 |
| II.1. OBSERVATIONS MACROSCOPIQUES | 52 |
| II.2. OBSERVATIONS HISTOPATHOLOGIQUES..... | 55 |
| CONCLUSION ET RECOMMANDATION | 59 |
| RÉFÉRENCES | 62 |

Introduction

Les surfaces des voies digestives de la plupart des animaux sont colonisées par des populations hautement spécialisées de micro-organismes, jouant un rôle crucial dans la santé et le métabolisme de leur hôte. Cet microbiote digestive, comprenant une diversité élevée de bactéries, archées, virus et champignons, forme un écosystème complexe adapté aux niches variées le long du tractus gastro-intestinal (**ECKBURG et al., 2005 ; LEY et al., 2008**).

Ces micro-organismes interagissent de manière dynamique avec les tissus hôtes, influençant la digestion des aliments, la biosynthèse de nutriments essentiels, la modulation du système immunitaire et la prévention de l'établissement de pathogènes opportunistes (**SEKIROV et al., 2010 ; SOMMER ET BÄCKHED, 2013**).

Les avancées récentes en séquençage génétique et en analyse métagénomique ont révélé la diversité et la fonctionnalité de cet microbiote, soulignant son importance dans le maintien de l'homéostasie digestive et de la santé globale des animaux (**O'HARA et SHANAHAN, 2006; QIN et al., 2010**).

Les bactéries en forme de spirale, telles que *Helicobacter pylori*, sont en effet des habitants normaux des glandes fundiques de l'estomac chez certaines espèces animales, y compris les chats et les chiens (**FOX, 2002**). *Helicobacter pylori* est spécifiquement connue pour coloniser l'estomac humain, mais il existe des espèces similaires qui colonisent les estomacs d'autres mammifères, y compris nos compagnons domestiques comme les chats et les chiens.

Ces bactéries en forme de spirale sont adaptées à l'environnement acide de l'estomac et peuvent y vivre pendant de longues périodes sans causer de symptômes de maladie chez l'hôte. Cependant, dans certains cas, elles peuvent être associées à des maladies gastro-intestinales, notamment des gastrites et des ulcères, bien que la relation exacte entre la colonisation par *Helicobacter pylori* et ces conditions nécessite encore une étude approfondie (**SOLNICK et al., 2001**).

L'intérêt pour les bactéries en forme de spirale colonisant la muqueuse gastrique a considérablement augmenté suite à la découverte et à l'isolement de *Campylobacter pylori*, désormais connu sous le nom d'*Helicobacter pylori*, à partir de biopsies gastriques prélevées sur des patients souffrant de gastrites.

Les Preuves que ces organismes jouent un rôle comme un agent étiologique de l'inflammation dans l'estomac humain et animales est maintenant très fort, et il y a aussi une suggestion qu'il pourrait être une condition préalable essentielle à l'ulcération peptique et peut être responsable de certains cas de dyspepsie non ulcéreuse (INGLIS et al., 2017).

En Algérie, les études sur les bactéries présentes dans les biopsies gastriques à l'aide de techniques histologiques ont été relativement limitées, avec la majorité des données disponibles provenant de recherches menées sur des êtres humains.

Le manque de données spécifiques a motivé notre étude, qui vise à explorer la présence de bactéries en forme spiralée, principalement *Helicobacter pylori*, dans le tractus digestif des chiens à partir d'échantillons prélevés sur des biopsies gastriques.

Cette recherche est cruciale non seulement pour mieux comprendre la prévalence et la distribution de ces organismes chez les animaux, mais aussi pour évaluer leur potentiel impact sur la santé gastro-intestinale des chiens. En contribuant à combler cette lacune de connaissances, notre travail pourrait avoir des implications significatives pour la gestion de la santé animale et la santé publique vétérinaire en Algérie.

Synthèse bibliographique

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Le tube digestif des chiens abrite une communauté complexe de microorganismes, essentielle à la santé générale et à la digestion de l'animal. Cette synthèse examine à la fois l'environnement gastro-intestinal canin et les méthodes utilisées pour détecter les bactéries présentes à ce niveau crucial.

I. Généralité sur le tube digestif de chien

I.1. Rappel anatomique du tube digestif

Le système digestif du chien comprend l'ensemble des organes impliqués dans le processus de digestion, allant de la bouche à l'anus, ainsi que les glandes digestives. Ces structures sont responsables de la transformation des aliments, de leur digestion et de leur absorption (PECH, 2021).

Composé de :

- 1. La cavité buccale** constitue le point de départ du tube digestif chez le chien. À ce niveau, les aliments sont mastiqués grâce aux dents, qui fragmentent mécaniquement les morceaux de nourriture. Ce processus de mastication est essentiel pour augmenter la surface de contact des aliments, facilitant ainsi l'action des enzymes digestives. Parallèlement, les glandes salivaires situées dans la bouche produisent de la salive, un liquide contenant des enzymes digestives, notamment l'amylase, qui commence la décomposition chimique des glucides. La salive agit également comme un lubrifiant, enrobant les aliments pour faciliter leur passage dans l'œsophage. Ce mélange de nourriture et de salive forme le bol alimentaire, qui est ensuite propulsé vers l'estomac par des mouvements péristaltiques (DYCE, SACK, WENSING, 2010).
- 2. Le pharynx**, également appelé arrière-bouche, est un passage en forme d'entonnoir situé entre la cavité buccale et l'œsophage. Il joue un rôle crucial au carrefour des voies digestives et respiratoires. Anatomiquement, le pharynx est divisé en trois sections : le nasopharynx, l'oropharynx et le laryngopharynx. Le nasopharynx se trouve en arrière des cavités nasales et est principalement impliqué dans la respiration, tandis que l'oropharynx et le laryngopharynx sont directement impliqués dans le processus de déglutition. Lorsque le chien avale, une série de mécanismes coordonnés permet de diriger le bol alimentaire de la bouche vers l'œsophage tout en empêchant l'entrée de nourriture dans les voies respiratoires. Le palais mou se soulève pour fermer le nasopharynx, empêchant ainsi le

passage des aliments vers les cavités nasales. Simultanément, l'épiglotte bascule pour couvrir l'ouverture du larynx, bloquant l'entrée vers la trachée et les poumons (**HOWARD, EVANS, 2013**).

3. **L'œsophage** est une partie essentielle du tube digestif, ayant la forme d'un tube, et est chargé de transporter les aliments de la bouche à l'estomac cette fonction est assurée par des contractions rythmiques et coordonnées des muscles œsophagiens, appelées ondes péristaltiques. Le passage de l'œsophage à l'estomac est régulé par le sphincter œsophagien inférieur, qui s'ouvre pour permettre le passage des aliments et se ferme pour empêcher le reflux du contenu gastrique (**CUNNINGHAM, 2012**).
4. **L'estomac** est un organe creux en forme de sac situé entre l'œsophage et le duodénum de l'intestin grêle. Il joue un rôle crucial dans le processus de digestion en assurant le malaxage et la décomposition des aliments grâce à l'action des sucs gastriques. Ces derniers sont produits par les cellules glandulaires de l'estomac et comprennent l'acide chlorhydrique qui aide à décomposer les aliments et crée un environnement acide optimal pour l'activité des enzymes digestive telles que la pepsine. L'estomac assure également une action mécanique sur les aliments grâce à ses contractions musculaires, appelées péristaltisme gastrique, qui mélangent les aliments avec les sucs gastriques, formant ainsi le chyme gastrique (**FOURNIER, 2022**).

L'estomac est constitué de

- Le cardia fait suite à l'œsophage, est l'orifice par lequel les aliments arrivent dans l'estomac du chien.
 - Le fundus est la partie haute de l'estomac, encore appelée grosse tubérosité, chargée de stocker temporairement les aliments.
 - Le corps est la partie principale de l'estomac dans laquelle les aliments sont décomposés.
 - L'antra pylorique se situe dans la partie basse de l'estomac et stocke les aliments décomposés avant leur passage dans l'intestin grêle.
 - Le polyre aussi nommé valve pylorique, établit la jonction avec l'intestin grêle. Il est en forme d'entonnoir et contrôle la vidange des aliments décomposés par le duodénum (**DUPONT, 2023**).
5. **L'intestin grêle** est un organe creux en forme de tube qui se situe entre l'estomac et le côlon. Sa principale fonction est de poursuivre le processus de digestion et d'absorber les nutriments essentiels provenant des aliments. Il est composé de trois parties principales (**HALL, 2020**) :

- Le Duodénum est la première portion de l'intestin grêle. Il est relativement court et se trouve juste après l'estomac. Il reçoit les sucs digestifs provenant du pancréas et de la vésicule biliaire, qui sont essentiels pour la digestion des graisses et des protéines. De plus, le duodénum est le site où la majorité de la digestion des nutriments commence (**GROPPER et al., 2022**).
 - Le jéjunum est la partie de l'intestin grêle située entre le duodénum et l'iléon. C'est dans cette région que se poursuit l'absorption des nutriments, notamment des glucides, des protéines et des acides gras. Le jéjunum présente une muqueuse intestinale très vascularisée, ce qui favorise l'absorption efficace des nutriments dans la circulation sanguine (**MACE, FURNESS, 2016**).
 - L'iléon est la dernière portion de l'intestin grêle. Il est responsable de l'absorption finale des nutriments, ainsi que des sels biliaires et de la vitamine B12. De plus, l'iléon joue un rôle important dans la régulation du passage des aliments du petit intestin vers le gros intestin (**TAPPENDEN, DEUTSCH, 2007**).
- 6. Le côlon** également appelé gros intestin, fait suite à l'intestin grêle et forme la dernière partie du tube digestif, avant l'anus. Il est constitué de différentes parties (**EVANS, LAHUNTA, 2013**) :
- Le cæcum est en forme de sac et correspond à la première partie du gros intestin. Il relie le côlon à l'intestin grêle.
 - Le côlon ascendant aussi appelé côlon droit, est le segment le plus volumineux du côlon. Il débute par le cæcum et se prolonge jusqu'au côlon transverse.
 - Le côlon transverse relie le côlon ascendant au côlon descendant.
 - Le côlon descendant aussi nommé côlon gauche, part du côlon transverse et se prolonge jusqu'au côlon sigmoïde.
 - Le côlon sigmoïde est le dernier segment du côlon et relie ce dernier au rectum (**DYCE et al., 2010**).
- 7. Le rectum** et l'anus permettent de retenir et de réguler le passage des matières fécales vers l'extérieur (**EVANS, LAHUNTA, 2013**).
- 8. Les organes annexes** du système digestif, tels que le foie et le pancréas, jouent des rôles cruciaux dans le processus de digestion et le métabolisme des nutriments (**SWENSON, REECE, 2013**).

I.2. Histologie du tube digestif

Bien qu'il existe certaines caractéristiques communes, chaque section du tube digestif a ses caractéristiques histologiques uniques, qui sont étroitement associées à la fonction de chaque section.

I.2.1. Organisation générale

Le tube digestif est constitué par un tube creux allant de la cavité buccale à l'anus différent selon ses parties mais constitue dans son ensemble par quatre tuniques muqueuse, sous-muqueuse, musculuse et adventice (**BEVELANDER, 1973**)

a- La muqueuse

Est le revêtement interne du tube digestif, c'est une membrane muqueuse. Elle comprend trois couches : un épithélium de revêtement, directement en contact avec les aliments ; une couche sous-jacente de tissu conjonctif aréolaire appelée chorion ; et une mince couche de muscle lisse appelée musculaire muqueuse (**DYCE, 2010**).

- La couche épithéliale Cette couche est principalement composée d'épithélium pavimenteux stratifié squameux dans la bouche, l'œsophage et le canal anal, ce qui offre une fonction protectrice. Cependant, dans le reste du tube digestif, elle est remplacée par un épithélium cylindrique simple, favorisant ainsi la sécrétion de mucus protecteur et l'absorption des nutriments (**EVANS, LAHUNTA, 2013**).
- Le chorion se compose de tissu conjonctif lâche contenant de nombreux vaisseaux sanguins et lymphatiques, ainsi que des follicules lymphatiques disséminés. Cette couche soutient l'épithélium et facilite l'approvisionnement en nutriments et en oxygène tout en éliminant les déchets (**BANKS, 2020**).
- La musculaire muqueuse renferme des cellules musculaires lisses qui créent des plis dans la muqueuse de l'intestin. Ces petits plis, appelés plis de Kerckring, augmentent considérablement la surface de la muqueuse, favorisant ainsi une meilleure digestion et absorption des nutriments (**DYCE, 2010**).

b- La sous muqueuse

La deuxième tunique de la paroi du tube digestif est la sous muqueuse. Elle se compose de tissu conjonctif lâche qui la relie à la troisième tunique, la musculuse. Avec des fibres collagènes, élastiques et de réticuline. En plus des fibroblastes, des plasmocytes et des lymphocytes, et quelques cellules adipeuses. Elle est richement vascularisée et contient un plexus nerveux (plexus de Meissner) fibres du système nerveux autonome qui innervent la

musculaire muqueuse. Ce plexus joue un rôle important dans la régulation des sécrétions par le tube digestif (**THOMAS, LEESON, 1971**).

Dans l'œsophage et le duodénum ; la sous muqueuse renferme les parties terminales de glandes muqueuses.

c- La musculuse

Habituellement est organisée en deux couches principales :

- Couche Circulaire Interne cette couche est composée de fibres musculaires circulaires qui entourent le tube digestif de manière transversale. Ces muscles sont responsables de la constriction et de l'occlusion du tube digestif, aidant ainsi au mélange des aliments avec les sucs digestifs et à la propulsion des aliments dans le sens oral vers l'anal (**EVANS, LAHUNTA, 2013**).
- Couche Longitudinale Externe cette couche est formée de fibres musculaires longitudinales disposées parallèlement à l'axe du tube digestif. Ces muscles aident principalement à raccourcir le tube digestif lors de péristaltisme, facilitant ainsi le mouvement des aliments (**DYCE et al., 2017**).

Dans l'estomac, une troisième couche de muscle lisse, appelée couche oblique, est présente entre les couches circulaire et longitudinale. Cette couche oblique permet des mouvements plus complexes de mélange et de broyage des aliments (**PASQUINI, 2020**).

Entre les deux couches de muscle lisse, se trouve un réseau de tissu nerveux appelé plexus myentérique, également connu sous le nom de plexus d'Auerbach et de plexus de Meissner (**MCLELLAND et al., 2018**).

d- La séreuse ou adventice

Cette couche externe de tissu conjonctif est le tissu de soutien de gros vaisseaux et des nerfs. Là où l'adventice est exposée dans la cavité abdominale on l'appelle séreuse qui est revêtue par un épithélium pavimenteux simple appelé mésothélium.

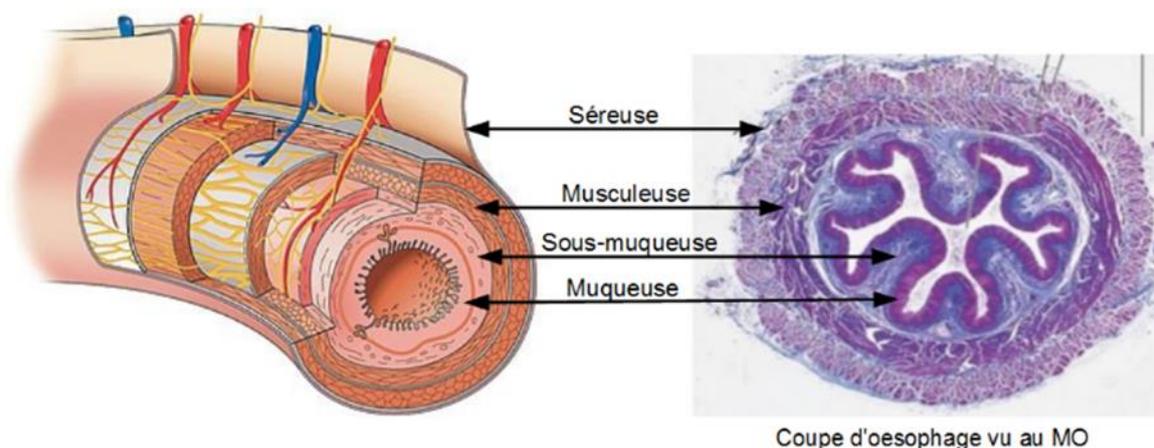


Figure 1 : Histologie générale de la paroi du tube digestif (BACHA, 2012).

I.2.2. Histologie de l'estomac

Selon les descriptions histologiques, on distingue trois régions principales dans l'estomac : le cardia, situé à son entrée ; le fundus, également appelé fond ; et l'antré, ou région pylorique, situé à sa sortie (BORON, BOULPAEP, 2020).

Au fond des cryptes, on trouve des glandes dont la nature varie selon leur localisation : les glandes cardiales, les glandes fundiques et les glandes pyloriques (GUYTON, HALL, 2021).

La paroi gastrique offre à décrire 5 tuniques : la muqueuse, la musculaire muqueuse, sous muqueuse, musculuse et séreuse, avec cependant des variations locorégionales importantes.

I.2.2.1.1. Muqueuse

A l'ouverture de l'estomac la cavité gastrique apparaît traversée de profonds plis, surtout au niveau du corps, ces plis s'effacent lors de la distension de l'organe (KONIG, et al., 2020). La muqueuse gastrique est caractérisée par la présence d'un épithélium de revêtement prismatique simple à pôle muqueux fermé et de glandes qui vont avoir un aspect différent selon les régions (BACHA, 2012).

De nombreux travaux in vivo et in vitro ont démontré que la muqueuse gastrique d'animaux adultes en bonne santé possédait une remarquable capacité à restaurer rapidement la continuité épithéliale, souvent en moins de 24 heures, après une agression mineure ou modérée. Cette réparation s'effectue par migration et prolifération cellulaires (HOFMANN, HAGEY, 2014).

En fonction du type de la glande on distingue 3 variétés de muqueuse gastrique : fundique, pylorique, et cardiale :

- **La muqueuse gastrique fundique** : Est caractéristique de la région du fundus et du corps de l'estomac. Elle forme des cryptes recouvertes par l'épithélium de surface, au fond desquelles s'ouvrent les glandes fundiques. Ces glandes se composent de 4 types cellulaires reposant sur une membrane basale (**SAMUELSON, 2013**).
- Les cellules mucoïdes du collet : petites, renferment dans le cytoplasme des mucopolysaccharides, acides carboxyles. Présentant une structure hétérogène en microscope électronique ainsi que des grains de pepsinogène, précurseur de la pepsine (**GARTNER, HIATT, 2021**).
 - Les cellules principales : constituent la majorité des cellules du corps de la glande. Elles secrètent du pepsinogène en grande quantité et possèdent les caractéristiques des cellules sécrétrices de protéines (un noyau arrondi, un réticulum granuleux basal très développé, un appareil de golgi supra nucléaire et des grains de sécrétion apicaux) (**GARTNER, HIATT, 2021**).
 - Les cellules pariétales (cellules bordantes ou cellules oxyntiques) : ce sont de grandes cellules ovalaires qui se trouvent en position excentrée par rapport à l'axe de la glande
 - Les cellules neuroendocrines, également connues sous le nom de cellules argentaffines, jouent un rôle crucial dans le système endocrinien. Ces cellules appartiennent au système APUD (Amine Precursor Uptake and Decarboxylation), qui regroupe des cellules capables de capter des précurseurs d'amines et de les décarboxyler pour produire des amines biogènes et des peptides hormonaux (**BORON, BOULPAEP, 2020**).
- **La muqueuse pylorique** : plus fine que la muqueuse fundique fait suite à cette dernière dans la région pylorique, après une zone de transition de quelque centimètre où les deux types de muqueuse sont intriqués. L'épithélium de revêtement a un aspect plus irrégulier et s'invagine dans des cryptes profondes au fond desquelles débouchent les glandes pyloriques. Ces dernières sont des glandes tubuleuses contournées, ramifiées qui comprennent deux types cellulaires (**SAMUELSON, 2013**).
- Cellules exocrines : élaborent un mucus pas plus. En microscopie électronique les grains de sécrétion apparaissent constitués par un noyau protéique interne, contenant du pepsinogène entouré de mucines.
 - Cellules endocrines : appartiennent au système endocrine diffus du tube digestif, parmi lesquelles on reconnaît des cellules entérochromaffines, des cellules gastriques, aussi des cellules gastro-intestinales, et des cellules à sécrétine.

- **La muqueuse cardiale** : Elle occupe la région située autour de l'abouchement de l'œsophage, elle est recouverte par l'épithélium de revêtement gastrique et comporte des glandes muqueuses constituées de cellules exocrines identiques à celle de la muqueuse pylorique.
- Le chorion : se répartie entre les différents types de glandes et se compose d'un tissu conjonctif lâche renfermant des capillaires et des cellules : fibroblastes, lymphocytes, plasmocytes, mastocytes et polynucléaire (**WILEY-BLACKWELL, 2015**)

I.2.2.1.2. Musculaire muqueuse

Faite de deux couches musculaires lisses très minces : une circulaire interne et une longitudinale externe son rôle est de limitée par la couche muqueuse. Aussi elle est responsable de la formation des plis gastriques visibles lorsque l'estomac est vide (**DYCE et al., 2010**).

I.2.2.1.3. La sous muqueuse

Elle est constituée de tissu conjonctif contenant de nombreuses cellules libres (lymphocyte, plasmocyte ...) et des vaisseaux sanguins et lymphatiques de grosse taille. On retrouve des éléments nerveux du plexus de Meissner (**BACHA, 2016**).

I.2.2.1.4. La musculeuse

La tunique musculuse de l'estomac est fortement développée et par opposition au reste du tube digestif se compose trois couches externes, longitudinale, moyenne circulaire, et interne oblique. Entre les différentes couches de la musculeuse, cheminent des éléments nerveux du plexus d'Auerbach (**DYCE et al., 2010**).

I.2.2.1.5. La séreuse :

En tant qu'organe intra-abdominal, l'estomac est couvert par une séreuse qui est une différenciation du feuillet viscéral du péritoine ; le mésothélium. Elle a de nombreux troncs vasculaires sanguins et lymphatiques et des nerfs (**DYCE et al., 2017**).

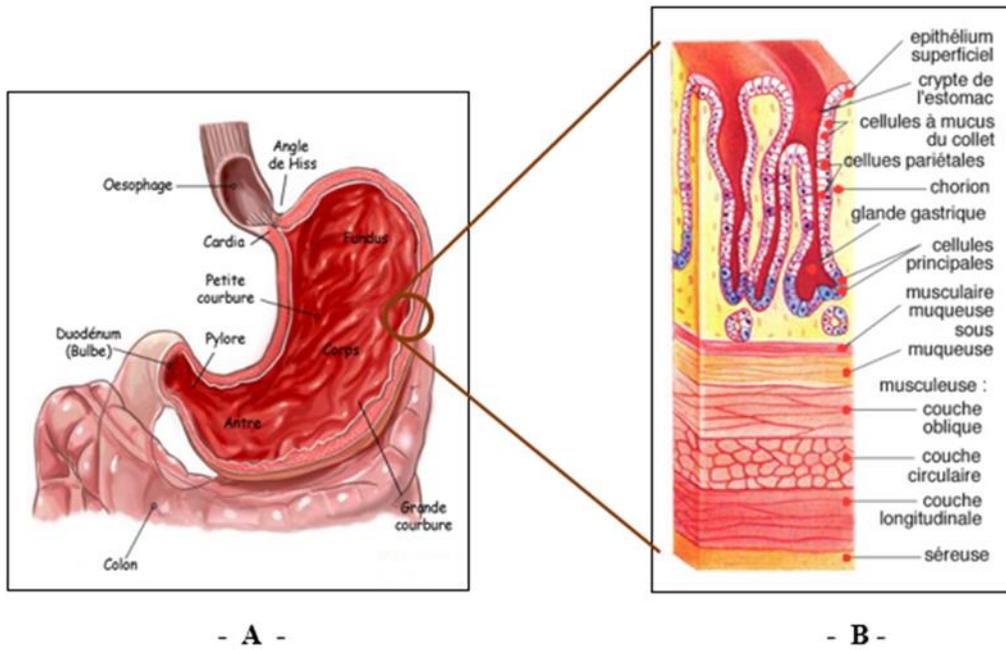


Figure 2: Schéma d'histologie de l'estomac ; (A) Anatomie de l'estomac (MENNECIER, 2022) et (B) les différentes tuniques constitutives de l'estomac (BACHA, 2012).

II. Bactéries spiralées de tube digestif de chien

II.1. La flore bactérienne chez le chien

Le microbiote intestinal, également connu sous le nom de flore bactérienne, est constitué de procaryotes (bactéries, archées), d'eucaryotes et de champignons, avec une prédominance des bactéries.

Dont les majorités ont des avantages pour la santé du système digestif. Ces bactéries jouent un rôle essentiel dans la digestion des aliments, l'assimilation des nutriments et la protection contre les infections, ce qui en fait un véritable écosystème qui interagit avec l'organisme (**PETERSON et al. 2015**).

Cependant, chaque animal possède un microbiote individuel unique qui se distingue par des proportions spécifiques d'espèces et de souches de bactéries les plus communes dans l'estomac du chien sont les suivantes (**SHIRAZI, RASOULI, 2021**) :

- ***Lactobacillus*** : jouent un rôle crucial dans la fermentation des aliments, un processus essentiel qui aide à la digestion des chiens de plusieurs manières. Ces bactéries contribuent à améliorer la digestion de l'animal en produisant des acides organiques, des enzymes digestives, des métabolites bénéfiques, ainsi qu'en modulant le système immunitaire et en synthétisant des vitamines (**GOMEZ-GALLEGO et al., 2021**).
- ***Bifidobacterium*** : Ces bactéries aident à l'absorption des nutriments, en particulier du calcium et du fer (**MONDO et al., 2019**).
- ***Streptococcus*** : Ils jouent un rôle crucial dans le maintien d'un équilibre sain du microbiote intestinal du canin. Leur aptitude à synthétiser des acides permet une digestion optimale des nutriments, tandis que leur résistance aux infections intestinales contribue à préserver la santé générale de l'intestin du chien. L'importance des *Streptococcus* dans le soutien de la santé digestive et immunitaire des animaux domestiques est mise en évidence par ces aspects (**GARCIA-MAZCORRO et al., 2011**).
- ***Escherichia coli*** : une bactérie communément présente dans le tractus gastro-intestinal des chiens et d'autres animaux. Elle est généralement bénéfique pour la santé digestive lorsqu'elle est présente en quantités normales et équilibrées, mais elle peut devenir pathogène en cas de déséquilibre de la flore bactérienne (**BÄCKHED et al., 2005**).

La flore bactérienne de l'estomac du chien est en constante évolution, en fonction de l'alimentation, du mode de vie et de l'état de santé de l'animal.

La quantité et la diversité de la flore bactérienne de l'estomac du chien peuvent être affectées par divers facteurs, notamment l'alimentation, l'âge, l'état de santé et l'environnement.

- **Alimentation :**

L'alimentation joue un rôle important dans la composition de la flore bactérienne de l'estomac du chien. Les chiens qui mangent une alimentation riche en protéines ont une flore bactérienne plus diversifiée que les chiens qui mangent une alimentation riche en glucides (**BELOSHAPKA et al., 2013**).

Le principal élément chez le chien est la quantité et la qualité des protéines contenues dans l'alimentation. En effet, si les protéines ne sont pas facilement digérées ou si elles sont présentes en trop grande quantité, une part importante dans le colon est présente. On favorise les bactéries protéolytiques et on observe notamment une forte présence de *Clostridium perfringens*.

De plus, la quantité de fibre semble avoir un impact sur l'activité du microbiote sans altérer sa composition. Lorsque la ration contient plus de 10% de fibres, on observe une diminution du taux de sulfides et d'indole, tandis que l'augmentation du taux d'acides acétique, propionique et butyrique est observée (**SCHMIDT et al., 2020**).

- **Age :**

La flore bactérienne de l'estomac du chien change avec l'âge. Les chiots ont une flore bactérienne plus diversifiée que les chiens adultes.

Dès la naissance, la colonisation du tube digestif débute par contamination lors du passage dans le tractus génital de la mère, puis par l'environnement. La quantité de micro-organismes est la plus élevée chez les chiots d'un jour, puis elle diminue et se stabilise vers le 42^e jour. Les bactéries aérobies sont plus nombreuses dans les premières semaines de vie que les bactéries anaérobies. Ensuite, lorsque l'on passe à une alimentation solide, le microbiote digestif change et se compose principalement de bactéries anaérobies et d'une plus grande variété d'espèces (**MIDDELBOSS et al., 2007**).

- **État de santé :**

Les chiens qui sont malades, en particulier les chiens qui ont des troubles digestifs tels que la diarrhée, les vomissements et le ballonnement, peuvent avoir une flore bactérienne altérée. Il peut être nécessaire de donner à l'animal des probiotiques, qui sont des bactéries bénéfiques pour la santé digestive.

- **Prise des médicaments :**

Les principaux médicaments à modifier le microbiote intestinal sont les antibiotiques et les inhibiteurs des pompes à protons. De cette manière, ils altèrent le pH du système digestif, ce qui réduit la destruction des micro-organismes. Le nombre de microorganismes sera donc plus élevé dans l'estomac, l'intestin grêle et le côlon. Toutefois, aucun problème digestif lié n'a été signalé.

Quant aux antibiotiques, leur utilisation chez un chien sans problèmes digestifs va entraîner une modification de l'abondance et de la diversité du microbiote. Par exemple, lorsqu'on administre de l'ampicilline, les bactéries telles que *Streptococcus* et *Enterococcus* présentent une diminution significative des coques gram positifs anaérobies, tandis que les coques gram négatifs aérobies et anaérobies augmentent.

Chaque catégorie d'antibiotiques a une action sur des populations distinctes, et les effets peuvent parfois être observés après l'arrêt de la prise en charge (**GIARETTA, SUCHODOLSKI et al., 2020**).

- Environnement :

L'environnement peut également influencer la composition de la flore bactérienne de l'estomac du chien. Les chiens qui vivent en contact avec d'autres chiens ont une flore bactérienne plus diversifiée que les chiens qui vivent isolés.

Cette flore bactérienne de l'estomac joue un rôle important dans la digestion des aliments, dans la protection de l'estomac contre les infections et dans la production de vitamines Tel que B12 (**FOSTER, NEUFELD, 2013**).

II.2. Les bactéries spiralées du tube digestif :

II.2.1. *Helicobacter*

Helicobacter n'a été décrite qu'en 1982 par deux chercheurs australiens, Robin Warren et Barry Marshall (**BALLOUX, 2007**)

La bactérie *Helicobacter pylori* (*Hp*) est présente dans l'estomac de 15 à 30 % de la population. Les ulcères gastroduodénaux, voire les cancers de l'estomac, peuvent être causés par l'infection (**YAMAOKA, 2010**). Avec de grandes disparités géographiques. En effet, sa prévalence est supérieure à 90% en Asie, Amérique latine et pays en voie de développement, de 50 à 70% en Europe de l'Est et de 30% environ dans les pays occidentaux (**BIOMNIS, 2012**).

Selon la deuxième édition d'manuel de berge la systématique bactérienne de 2001, le genre *Helicobacter* appartient à la famille des *helicobacteraceae*, comme le montre l'arbre phylogénique suivante (**PRESCOTT et al., 2003**)

- Domaine des *Eubacteria*
- Phylum des *Proteobacteria*
- Classe des *Epsilon-proteobacteria*
- Ordre des *Campylobacterales*
- Famille des *Helicobacteraceae*
- Genre des *Helicobacter*

C'est une catégorie de bactéries mobiles, gram négatives, flagellées, de forme convexe à spiralée (**MOBLEY, MENDZ, 2001**). Leur longueur varie de 1,5 à 10 micromètres et leur largeur de 0,3 à 1,2 micromètres selon les espèces. Elles ont une affinité pour l'estomac (*Helicobacter* gastriques), le foie (*Helicobacter* hépatiques) et l'intestin, en particulier le côlon (*Helicobacter* intestinales) (**BEVERIDGE, 2001**).

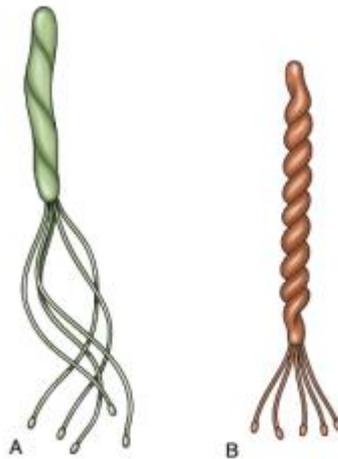


Figure 3 : Différentes structures d'*Helicobacter spp.* à noter la forme commune spiralée et la présence de flagelles. A : *Helicobacter pylori* ; B : *Helicobacter non-H.pylori* (**SYKES, MARKS, 2014**).

La transmission est interhumaine par voie orale. Cette bactérie possède plusieurs facteurs de pathogénicité (**MORTENSEN et al., 2020**).

- Uréase : qui neutralise l'acidité de l'estomac, en transformant l'urée en ammoniacque et dioxyde de carbone.
- Flagelles : sert au déplacement sans le mucus gastrique.
- Andésines : adhésion à la surface des cellules épithéliales.

BACTERIES SPIRALEES DE TUBE DIGESTIF DE CHIEN

- CagA : oncoprotéine codée par l'îlot de pathogénicité cagPAI sert à l'induction du réarrangement du cytosquelette, destruction des jonctions inter-cellules, activation de la voie NFκB et de voie pro-oncogéniques
- VacA : toxine vacuolisante qui induit de l'apoptose des cellules infectées, inhibe de l'activation des lymphocytes T.

Hp est une bactérie en forme d'hélice qui, contrairement à la plupart de l'autre micro-organisme, apprécie le Ph peu élevé de l'estomac (FRANCIS ,2020).

De nombreuses espèces appartenant au genre *Helicobacter* ont pu être cultivées à partir de l'estomac de l'homme et des animaux. Le chef de file est sans conteste *Helicobacter pylori*. Cependant, d'autres espèces ayant également la capacité d'infecter l'homme ou simplement fournissant des modèles d'infection naturelle de leur hôte sont intéressantes à considérer.

Les différentes espèces sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau 1 : Exemples d'espèces *Helicobacter* sélectionnées signalées chez des hôtes animaux (MEGAN, 2022).

| | Espèces animales | | | | | | |
|---|------------------|--------|------|-------|--------|---------|--------------------|
| | Canine | Féline | Porc | Ovine | Bovine | Humaine | Autres |
| <i>Helicobacter pylori</i> | | + | | + | | + | Primates |
| <i>Helicobacter felis</i> | + | + | | | | + | Lapin |
| <i>Helicobacter suis</i> | | | + | | | + | |
| <i>Helicobacter cinaedi</i> | + | + | | | | + | Hamsters, renard |
| <i>Helicobacter canis</i> | + | + | | | | + | |
| <i>Helicobacter salomonis</i> | + | + | | | | | Lapin |
| <i>Flexispira rappini</i> " ou <i>Helicobacter rappini</i> | + | + | | + | | + | |
| <i>Helicobacter bizzozeronii</i> | + | + | + | | | + | Primates |
| <i>Helicobacter mustelae</i> | | | | | | | Furet |
| <i>Helicobacter bilis</i> | + | | + | | | | Souris |
| <i>Helicobacter hepaticus</i> | | | | | | | Souris |
| <i>Helicobacter bovis</i> | | | | | | | |
| <i>Helicobacter pullorum</i> | | | | | | + | Souris, volaille |
| <i>Helicobacter cetorum</i> | | | | | | | Dauphins, baleines |
| <i>Helicobacter brantae</i> | | | | | | | Volaille |

Il existe de fortes indications selon lesquelles les espèces d'*Helicobacter* peuvent être transférées de manière zoonotique entre les humains et les animaux (FLAHOU et al., 2020).

Les humains ont été infectés par de nombreux espèces d'*Helicobacter* et le contact avec différentes espèces animales ont été associés à l'infection, bien qu'il existe peu de données causales. Il existe des preuves similaires, les souches sont présentes chez les humains et leurs animaux de compagnie. *Hélicobactérie* Des espèces ont également été isolées à plusieurs reprises dans des produits laitiers, et des rapports font état de *H. pullorum*, un entéropathogène de la volaille, en tant qu'agent pathogène d'origine alimentaire associé aux carcasses de viande contaminées. La transmission zoonotique est le plus souvent envisagée chez les espèces NHPH, où la prévalence humaine (estimée à 6 %) est généralement prévalence inférieure à celle de *H. pylori* (estimée à 50 %) ; cependant, les chats hébergeant *H. pylori* ont été signalés comme risque zoonotique (MEGAN, JACOB, 2022).

II.2.2. *Campylobacter*

Les *Campylobacter* sont des hôtes intestinaux normaux des volailles et des porcs, porteurs sains de ces germes dans leur intestin. Ces animaux constituent le réservoir principal de ces germes. Ils peuvent contaminer ensuite des animaux d'élevage (bovins, ovins..) ou de compagnie (chiens, chats) Ainsi que les crustacés (DELARRAS, 2010).

Classification phlyogénique :

- Domaine *eubacteria*
- Phylum *proteobacteria*
- Classe *epsilonproteobacteria*
- Ordre *campylobacterales*
- Famille *campylobacteraceae*
- Genre *campylobacter*
- Espèces ils comprennent 17 espèces et 6 sous-espèces dont deux principales *c.jejuni* et *c.coli*.

D'après l'OMS la principale voie de transmission est alimentaire et passe par la consommation de viande et de produits dérivés des viandes insuffisamment cuits ou de lait cru ou contaminé. L'eau contaminée est aussi source d'infection (KIRK et al., 2015).

Le genre *c.jejuni* est responsable d'une inflammation du colon provoquant fièvre et diarrhée (BUSH, 2023).

La campylobacteriose est habituellement diagnostiquée par la détection de la bactérie dans les selles (FITZGERALD et al., 2020).

Campylobacter est un genre de bactéries Gram négatif, possèdent un flagelle micro aérophiles, oxydase positive, non sporulantes, (**BUTZLER, 1984**). Le ph optimal se situe entre 6,5 et 7,5 (**FEDERIGHI, 2005**)

Les bactéries du genre *Campylobacter* (*C. jejuni*, *C. coli* surtout) sont à l'origine de manifestations cliniques variées, où les entérites dominent largement : diarrhée, accompagnée de fièvre et de douleurs abdominales, après une période d'incubation de deux à cinq jours. Plus rarement, des complications post-infectieuses peuvent se produire : arthrite réactionnelle (**SILVA et al., 2011**).

C. helveticus est le plus souvent isolé des matières fécales de chiens et chats en bonne santé, mais dans certaines études, l'isolement est plus fréquent chez les animaux souffrant de diarrhée. La bactérie n'est pas connue pour provoquer des maladies chez les humains (**GERALD, 2022**).

Les *Campylobacters* sont impliqués dans des toxi-infections alimentaires collectives (TIAC), (**HAEGHABAERT, 2002**)

Les *campylobacters* sont isolés sur des milieux sélectifs comme la gélose de Preston ou de Karmali après incubation à 42°C pendant 24 à 72H (**DELLARAS, 2010**).

Tableau 2 : Espèces de *Campylobacter*, leurs hôtes principaux correspondants, et l'association de maladies chez les animaux et les humains (GERALD, 2022).

| Espèces | Hot(s)primaire(s) | Symptômes chez les animaux | Symptômes chez les humains |
|---|---|---------------------------------------|----------------------------|
| <i>Campylobacter fetus ssp. fetus</i> | Ruminants | Avortements | Diarrhée, bactériémie |
| <i>C. fetus ssp. venerealis</i> | Bétail | Avortements, infertilité | Non reporté |
| <i>Campylobacter jejuni ssp. jejuni</i> | Volaille, ruminants, porc, chien, chat humain | Avortements, diarrhée, asymptomatique | Diarrhée, bactériémie |
| <i>Campylobacter coli</i> | Porc, volaille, ruminants, humain | Asymptomatique, avortement | Diarrhée, bactériémie |
| <i>Campylobacter upsaliensis</i> | Chien, chat, volaille | Asymptomatique, diarrhée | Diarrhée, bactériémie |
| <i>Campylobacter lari</i> | Volaille, chien | Non reporté | Diarrhée, bactériémie |
| <i>Campylobacter hyointestinalis ssp. hyointestinalis</i> | Ruminants | Asymptomatique, diarrhée | Diarrhée |
| <i>C. hyointestinalis ssp. lawsonii</i> | Porc | Asymptomatique, diarrhée | Diarrhée |
| <i>Campylobacter helveticus</i> | Chat, chien | Asymptomatique, diarrhée | Non reporté |
| <i>Campylobacter sputorum biovar sputorum</i> | Ruminants | Non reporté | Diarrhée |
| <i>C. sputorum biovar faecalis</i> | Ruminants | Non reporté | Non reporté |
| <i>C. sputorum biovar paraureolyticus</i> | Ruminants | Non reporté | Diarrhée |
| <i>Campylobacter mucosalis</i> | Porc | Non reporté | Non reporté |

II.2.3. Autres bactéries

II.2.3.1.1. *Vibrion*

Les bactéries du genre *Vibrion* appartiennent à la famille des *Vibrionaceae* classe des *γ*-protéobactéries, naturellement présent sur les plantes et animaux marins, le genre *Vibrion* compte plus de 20 espèces dont quatre représentent un grave danger pour la santé publique (DELARRAS ,2010 ; CHROMAGAR, 2023).

Vibrion est une bactérie à Gram négatif, en forme de bâtonnet droit ou recourbé en virgule, de 0,5 à 1 µm de diamètre, halophile (croissance de 0,5 à 10 % en NaCl), oxydase positive, saccharose négatif, aéro-anaérobie facultatif souvent présente dans les milieux aquatiques. Les vibrions sont généralement cultivables sur milieu "marine agar" ou sur gélose thiosulfate-citrate-bile-salt sucrose agar (milieu TCBS) (LABREUCHE, 2006).

Quelques espèces possèdent un pouvoir pathogène, les unes contre les hommes, les autres contre les animaux aquatiques comme les poissons ou les batraciens (**SCHWARZ, WOODWARD et al., 2009**).

Les *Vibriopathogènes* potentiels plus spécifiquement un «pouvoir toxique»: capacité de la bactérie à sécréter une toxine responsable de trouble dans le fonctionnement d'un organisme supérieur. Les souches pathogènes de *Vibrio* sont identifiées par un sérogroupage en particulier les antigènes de paroi (**BAKER-AUSTIN et al., 2017**).

Les *Vibrio cholerae* des sérogroupes O1 ou O139, agents du choléra, sont majoritairement liés à des cas de contaminations humain à humain, d'ingestion d'eau contaminée ou de consommation d'aliments contaminés par l'eau (**SACK et al., 2015**).

Pour *Vibrio parahaemolyticus* et *Vibrio cholerae* non O1 ou O139, les principales voies de contaminations sont les crustacés, mollusques et autres produits de la pêche. Cependant des cas liés à la consommation d'algues marines, produits traiteurs, fruits ou crudités ont déjà aussi entraîné des TIAC (**BAKER-AUSTIN et al., 2017**).

Pour *Vibrio vulnificus*, les contaminations alimentaires sont rares, la transmission s'effectue plus par voies cutanées (ex : blessures lors de la manipulation de coquillages contaminés) (**JONES et al., 2021**).

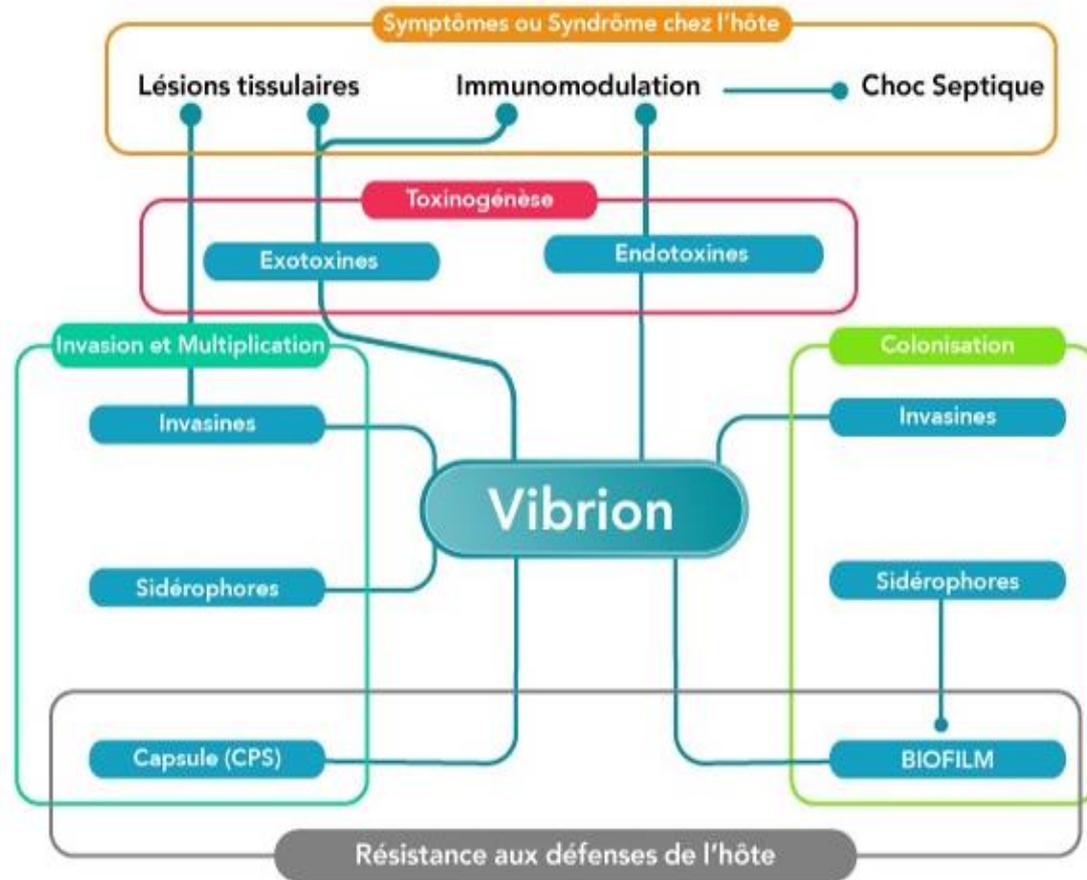


Figure 4 : Schéma synthétique présentant les différents facteurs de virulence pouvant être mis en jeu par les vibrions au cours de l'infection. Le vibrion possède différentes structures qui peuvent intervenir au cours du processus de colonisation de l'hôte (boîte verte). Après le franchissement des barrières naturelles de l'hôte, le vibrion peut synthétiser différents composés biochimiques (polysaccharides, enzymes, sidérophores) impliqués dans le processus d'invasion et de multiplication (boîte bleue) et/ou lui permettant de résister aux mécanismes de défense de l'hôte (boîte grise). Le vibrion peut également produire des toxines (boîte rouge), responsables des symptômes ou de certains syndromes associés à infection (boîte orange) (RAMAMURTHY et al., 2014).

II.2.3.1.2. *Arcobacter*

Les membres du genre *Arcobacter* sont associés à la diarrhée chez le bétail, à la mammite chez les bovins, aux avortements chez les bovins et porc et entérocolite chez l'homme. Le genre a été créé en 1991 pour accueillir deux espèces de *Campylobacter* qui poussaient dans l'air « *Campylobacter* aérotolérants », et il contient actuellement 29 espèces.

Les six espèces qui ont été isolées chez des animaux sont *Arcobacter butzleri*, *Arcobacter cryaerophilus*, *Arcobacter skirrowii*, *Arcobacter Thereius*, *Arcobacter cibarius* et *Arcobacter trophiarium*. Les espèces restantes proviennent des coquillages, de l'eau, des plantes et des eaux usées (DUHAMEL, 2022)

Arcobacter est courbé en bacilles à Gram négatif en forme de S, mobiles, non sporulés, généralement de 0,2 à 0,9 mm de large et de 0,5 à 3 mm de long. Ils sont aérobies-anaérobies facultatifs et peuvent survivre entre 15 et 42°C. Des conditions microaérobies (3 à 10 % d'O₂) sont recommandées pour une croissance optimale (LAMEEI et al., 2022).

Ces bactéries ont finalement été distinguées du genre *Campylobacter* par leur capacité à croître à de plus faibles températures que ce dernier. Ces bactéries possèdent un unique flagelle polaire. Plus de 30 espèces sont recensées à ce jour au sein du genre *Arcobacter*, plus d'un tiers ont été décrites depuis 2015. Face à la grande diversité génétique des *Arcobacter*, la taxonomie de ce genre bactérien a été réévaluée par analyses phylogénétiques en 2018 et une nouvelle taxonomie a été proposée (LEVICAN et al., 2013).

Arcobacter est un germe entéropathogène dont la prévalence est encore probablement sous-estimée en raison d'une méconnaissance de ce pathogène. L'absence d'intégration de cette bactérie dans les panels de PCR multiplex reste un facteur limitant pour sa mise en évidence. Le dialogue clinico-biologique est primordial pour une interprétation optimale du résultat de la coproculture. (CARTIER et al., 2020).

III. Les techniques de diagnostic histologique

III.1. Préparation des prélèvements

Dans toute méthode histologique, quatre étapes se succèdent : la sélection du matériel à étudier, les techniques de visualisation des structures que l'on souhaite étudier, la génération d'images de ces structures par des moyens optiques et l'interprétation des images dont le but est d'analyser la morphologie au microscope optique (**BANCROFT, GAMBLE, 2019**).

Ces matériaux sont collectés de différentes manières, peut être obtenu par biopsie (directement pour la peau, les organes via un appareil endoscopique), par ponction à l'aiguille (pour la moelle osseuse), provenir d'une pièce opératoire, d'autopsies ou de dissections d'organes issus d'expérimentations animales (**GARTNER, HIATT, 2018**).

Les pièces examinées sont le résultat d'un procédé technique qui nécessite plusieurs étapes consécutives : prélèvement, fixation, inclusion, coupe, coloration, montage.

III.1.1. Les prélèvements

Quels que soient les échantillons, ils doivent être collectés avec le plus grand soin, car leur qualité détermine directement les possibilités de la recherche (**FLETCHER, 2020**).

- Les frottis : prélèvement médical au moyen d'un écouvillon stérile, d'une petite brosse ou d'une petite spatule (par exemple au niveau du col de l'utérus) ;
- Les biopsies : prélèvement de très petite taille d'un tissu, à des fins d'étude microscopique ;
- L'exérèse partielle ou complète : Ablation chirurgicale d'un organe ou partie, d'une lésion, d'un corps étranger (ex: tumeur). Elle est réalisée en bloc opératoire ou pour une autopsie.
- Les ponctions de liquides (pleurale, ascitique, péricardique.)

Il existe également des techniques de prélèvement plus sophistiquées : par excision, microdissection. Des prélèvements sont fréquemment réalisés au cours d'une opération, et sont étudiés directement au bloc opératoire en extemporané par cryostat (**DUBOIS, 2021**).

III.1.2. Fixation

Indispensable quelle que soit la nature du prélèvement et la technique utilisée pour conserver l'échantillon dans un état le plus proche possible de l'état in vivo avec arrêt de toutes activités mitotique et enzymatique. Ainsi que le durcissement de la pièce anatomique. La conservation peut être utilisée (**MARTIN, 2020**) :

- La congélation : à -20°C permet de conserver les tissus où le diagnostic doit être connu rapidement (ex : en salle d'opération ; examen extemporané) (**LECLERC, 2021**).

- La fixation par un produit chimique comme le formol ou le liquide de Bouin.
- La durée de la fixation varie selon le volume des prélèvements.
- dessiccation : séchage à l'air après étalement, particulièrement adaptée pour la cytologie sanguine (frottis sanguins)
- La lyophilisation combine la congélation (lyophilisation) avec l'évaporation complète sous vide de l'échantillon. Retirer l'eau évite l'hydrolyse et retient les petites molécules difficiles à conserver (**MARTIN, 2020**). Ces méthodes physiques, qui nécessitent du matériel coûteux, sont réservées à des situations particulières ou à des recherches.

III.1.3. **Inclusion :**

Une fois que les tissus ont été fixés à l'aide de produits chimiques comme le formol ou le liquide de Bouin, une étape cruciale dans le processus de préparation pour les analyses histologiques est l'inclusion dans un matériau solide, généralement de la paraffine (les tissus fixés sont progressivement déshydratés à travers une série de bains d'alcool, puis infiltrés avec de la paraffine fondue) qui permet non seulement un remplacement de l'eau tissulaire mais aussi préserver l'intégrité structurelle, et aussi de faciliter la réalisation de coupes fines pour les études histologiques (**BANCROFT, GAMBLE, 2018**).

III.1.4. **Coupe**

Une fois que les tissus ont été inclus dans des blocs de paraffine après fixation chimique, le processus se poursuit par la coupe des échantillons en tranches très fines, appelées sections, à l'aide d'un microtome qui permet de découper des sections extrêmement minces à une épaisseur contrôlée, typiquement entre 2 et 5 micromètres (μm) qui sont ensuite recueillies sur des lames de verre spéciales (**SHEEHAN, HRAPCHAK, 2012**).

III.1.5. **Coloration**

Le but de la coloration est d'accentuer les contrastes afin de différencier les différents constituants tissulaires (noyau, membrane plasmique et cytoplasme).

On peut avoir recours à différents colorants qui peuvent être chargés positivement (colorants basiques) ou négativement (colorants acides). Les affinités tinctoriales des composants cellulaires sont en relation avec cette charge (**HEWITSON, DARBY, 2014**).

Les substances acides de la cellule sont colorées par un colorant basique, les substances basiques de la cellule par un colorant acide.

- Les colorations de routine utilisent un (hématoéine) ou deux colorants différents :
 - L'Hématoéine-Eosine (H.E.) associée:

- L'hématéine qui colore les noyaux en violet.
- Léosine les cytoplasmes en rose.
- La coloration du Trichrome de Masson
- La coloration à l'Orcéine pour les fibres élastiques

III.1.6. Montage

Les coupes colorées sont montées entre lame et lamelle avec une résine synthétique « Baume de Canada » dont l'indice de réfraction est proche de celui du verre.

On obtient, ainsi, une préparation histologique (une lame histologique) prête à être observée au microscope optique.

III.2. Techniques de détection in situ

Il existe de nombreuses techniques histologiques.

III.2.1. Histochimie

Les techniques histochimiques reposent sur des réactions biochimiques et peuvent mettre en évidence différents composants dans les cellules ou les tissus in situ, par exemple :

- Mise en évidence des Polysaccharides par la réaction du P.A.S :

«Periodic Acid Schiff » (PAS) est une technique histochimique qui permet de détecter les polysaccharides (glycogène, mucopolysaccharides, glycosaminoglycanes) qui présentent des résidus de glycol dans leur structure.

Les liaisons glycol (radicaux α -glycol) des polysaccharides sont clivées par le périodate d'acide (HIO₄), un oxydant puissant qui produit des groupes fonctionnels aldéhyde.

Les groupes aldéhydes réagissent avec le réactif de Schiff, généralement une solution de fuchsine ou de rose de méthylène, pour former un précipité rose fuchsia. On observe cette réaction uniquement chez les composés contenant des fonctions aldéhyde (**STEVENS, JAMES, 2013**).

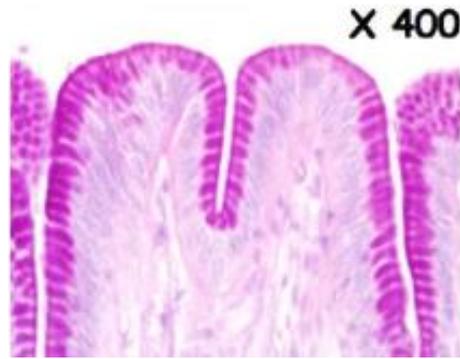


Figure 5 : Réaction du PAS sur une coupe histologique gastrique; mucus (**BACHA, 2012**).

- Mise en évidence des lipides :

Les graisses peuvent être solubilisées par des solvants couramment utilisés en histologie de routine (alcool, xylène ou toluène). Pour préserver les lipides dans les tissus, il est nécessaire de réaliser des coupes sur des tissus congelés (à l'aide d'un cryostat). Des colorants sélectifs tels que le Soudan Rouge ou le Soudan Noir peuvent ensuite être utilisés pour visualiser les lipides. Une légère fixation au formol avant congélation peut améliorer la conservation et ainsi améliorer la visualisation du reste du tissu (**STEVENS, JAMES, 2013**).

III.2.2. Histochimie enzymatique

La distribution tissulaire de certaines enzymes spécifiques peut être étudiée sur des coupes fraîches en ajoutant un substrat spécifique pour cette enzyme. L'enzyme réagit ensuite avec ce substrat pour former un produit de réaction primaire insoluble, ce qui peut être mis en évidence par la couleur appliquée immédiatement ou ultérieurement.

La plupart des systèmes enzymatiques étant détruits lors de la fixation, les méthodes histochimiques enzymatiques sont le plus souvent réalisées sur des coupes congelées. Ces techniques permettent de détecter un grand nombre d'enzymes pathologiquement exprimées dans certains tissus (**ROSS, PAWLINA, 2019**).

III.2.3. Immunohistochimie – Immunocytochimie

L'immunohistochimie (IHC) est une méthode qui permet de détecter des protéines ou d'autres antigènes dans des sections de tissu. À cet effet, les sections sont exposées à des anticorps marqués dirigés contre des épitopes de la protéine cible. Il est alors possible de visualiser une cible à l'aide d'un marqueur, par exemple, d'un colorant fluorescent, d'une enzyme, d'un traceur radioactif ou d'or colloïdal.

L'application des anticorps peut se faire de deux manières distinctes : par méthode directe, c'est-à-dire en liant un anticorps conjugué à un marqueur à sa substance cible, ou par méthode indirecte, en incubant l'anticorps primaire dans la substance cible, puis en liant un anticorps secondaire marqué à l'anticorps primaire (**BUCHWALOW, BÖCKER, 2010**).

La fixation d'un anticorps spécifique (clone) de l'antigène est soulignée par une réaction colorimétrique (marron ou rouge).

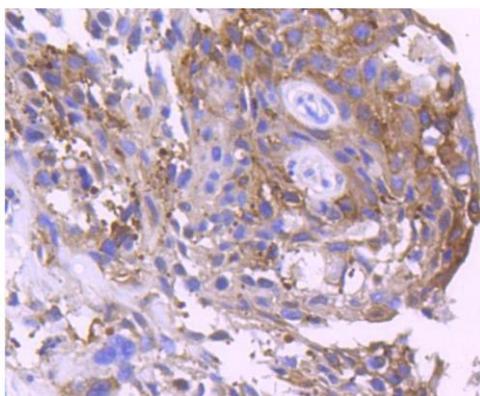


Figure 6 : Anticorps anti-collagène de type I valide par IHC (**BUCHWALOW, BÖCKER, 2010**).

III.2.4. L'hybridation in situ

L'hybridation in situ est une technique qui permet de visualiser la présence d'ADN ou d'ARN spécifiques à l'intérieur d'une cellule ou d'un tissu. Le principe de cette technique est basé sur l'utilisation d'une sonde fluorescente correspondant à une séquence d'acide nucléique spécifique à un gène cible (**BAUMAN et al., 1980**).

L'avantage de cette technologie est de donner une information quantitative et visuelle sur les ARNm étudiés. Elle constitue également une alternative aux expériences d'immunohistochimie ou d'immunofluorescence lorsqu'aucun anticorps n'est disponible. L'hybridation in situ peut également avoir un intérêt lorsque les échantillons à analyser sont partiellement dégradés ou en trop faible quantité pour permettre une analyse de gènes d'intérêt par RT-qPCR. En effet, l'étape d'extraction d'ARN nécessaire pour des expériences de RT-qPCR peut s'avérer délicate dans ces contextes et résulter en l'obtention d'ARN de mauvaise qualité, difficilement exploitable par la suite (**BOGAARD et al., 2008**).

III.2.5. Autoradiographie

L'autoradiographie est une technique utilisée pour localiser des substances radioactives dans les tissus biologiques. Les échantillons contenant la substance radioactive sont exposés à une plaque photographique sensible aux rayonnements. Les rayonnements émis par l'isotope radioactif traversent l'échantillon et impressionnent la plaque photographique, formant une empreinte autoradiographique. Après développement chimique de la plaque, cette empreinte révèle la localisation et l'intensité de la substance radioactive dans les tissus, offrant une méthode précise pour visualiser la distribution spatiale des isotopes marqués en biologie moléculaire et en recherche biomédicale (SMITH et al., 2021).

Partie expérimentale

Objectif

Ce projet a été initié dans le but de participer à l'évolution des méthodes d'analyse en histologie et d'ouvrir de nouvelles perspectives dans le domaine de la bactériologie animale. Nous nous concentrons principalement sur la détection de bactéries spiralées, notamment les bactéries *Helicobacter*, dans le tube digestif des chiens.

Afin d'accomplir cela, nous avons utilisé des méthodes histologiques sophistiquées, dans le but d'approfondir notre compréhension de la colonisation bactérienne et de son influence sur la santé des animaux.

Il est possible que cette étude contribue à améliorer les techniques diagnostiques et thérapeutiques en médecine vétérinaire, tout en fournissant des informations précieuses pour la recherche en bactériologie animale.

I. Matériel et méthodes

I.1. Type et période d'étude

Il s'agit d'une étude descriptive menée à l'institut PASTEUR et au laboratoire d'anatomopathologie et d'histologie à l'ENSV.

Pour effectuer les prélèvements nécessaires, des cadavres de chiens ont été obtenus à partir de plusieurs sources, notamment :

- Le service d'autopsie de l'École Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger (ENSV),
- L'association BCHE d'Alger,
- Ainsi que par la collaboration de plusieurs vétérinaires praticiens.

Ces échantillons ont ensuite été acheminés au service d'anatomopathologie de l'École pour les analyses nécessaires.

I.2. Nombre de prélèvements

Durant la période de l'année universitaire (2023-2024), nous avons effectué un total de **10 (×3)** prélèvements au niveau d'estomac (cardia, pylore, duodénum) sur des chiens présentant ou non des lésions au sein d'estomac directement après l'autopsie au niveau lieux cités auparavant (Figure 07).

Pour chaque animal, nous avons remplis une fiche de renseignement (Annexe 01).

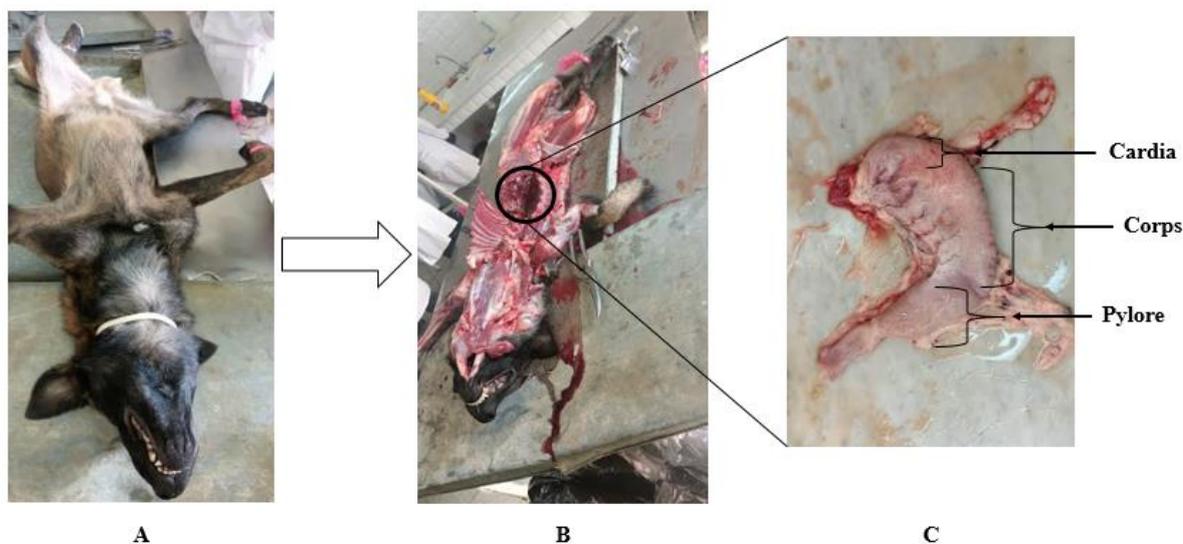


Figure 7 : Répartition des prélèvements réalisés dans l'estomac des chiens (Photo personnelle)

I.3. Matériels utilisés

Toute activité histologique a en commun l'action d'observer et d'interpréter ce qui est vu. Dans toute démarche d'ordre histologique, 4 étapes se succèdent :

- Le choix du matériel à étudier,
- La technique permettant de visualiser les structures que l'on veut étudier,
- La production d'images de ces structures, par des moyens optiques et l'interprétation de ces images.

I.3.1. Matériels biologiques

- Les biopsies gastriques (fragments de muqueuses)
- Les solutions

- **Le fixateur (Formol)**

Pour figer les tissus dans l'état le plus proche de leur état initial, le formol seul (formaldéhyde dilué) dans l'eau courante, ou tamponné c'est le plus utilisé car il est : bon marché, incolore, permet la fixation de grosses pièces, permet l'immunohistologie mais allergisant et carcinogène.

- **L'alcool**

Nous avons utilisé de l'alcool à concentrations croissantes (de l'alcool à 50° jusqu'à l'alcool absolu 100°), pour la déshydratation, l'alcool éthylique est l'agent déshydratant le plus utilisé.

- **Le xylène ou toluène**

Agent éclaircissant des cassettes et des lames, miscible à la fois au déshydratant et à la paraffine. Utilisé lors du déparaffinage des lames.

- **La paraffine**

Utilisé lors de l'imprégnation et l'inclusion des cassettes ; agent de conservation des architecturaux des structures les unes par rapport aux autres et de donner un support externe à la fois pendant et après la coupe.

- **L'eau du robinet**

Utilisée pour le rinçage et l'hydratation des lames

I.3.2. Matériels non biologiques

- Tubes secs remplis du formol afin de fixer directement nos biopsies.
- Bistouris.
- Couteaux.
- Cassettes pour les biopsies.
- Lames et lamelles.
- La colle pour le montage de lame/mamelles.
- Les gants.

I.3.3. Appareillages

- Congélateur a -30°C.
- Microtome.
- Étuve.
- Appareil de déparaffinage et de coloration.
- Microscope optique.

I.4.Méthodes

I.4.1. Réalisation des Fragments de muqueuse gastrique

Après l'autopsie du chien, un échantillon de fragments de muqueuse d'estomac a été prélevé (biopsie), nous avons pris 03 fragments pour chaque échantillon : cardia, pylore et une partie du duodénum.

Les prélèvements de la muqueuse gastrique sont faits avec des pinces et des bistouris à usage unique.

Le prélèvement de biopsies doit être ciblé avec précision, de façon perpendiculaire à la muqueuse prélevée.

Les prélèvements doivent être immédiatement placés dans un récipient contenant un fixateur (fourni par le laboratoire d'anatomopathologie de l'école et l'institut PASTEUR). De préférence, le formol dilué ou le liquide de Bouin pour la conservation morphologique des structures tissulaires et cellulaire.

Quel que soit le fixateur, le prélèvement doit être échantillonné et la taille des échantillons adaptée à celle de la cassette d'inclusion.

I.4.2. Déshydratation

Après fixation au formol, les échantillons subissent un rinçage à l'eau du robinet pour éliminer l'excès de fixateur. Cette étape est essentielle pour préparer les tissus à la déshydratation, un processus crucial dans la préparation histologique.

La déshydratation vise à extraire toute l'eau intracellulaire des tissus, pour permettre la réalisation de coupes fines sans altérer la structure cellulaire initiale. En l'absence de cette étape, la rupture de la membrane plasmique lors de la coupe provoquerait une sortie d'eau brutale, compromettant ainsi l'intégrité des échantillons.

Pour effectuer la déshydratation, les échantillons sont immergés successivement dans une série de bains d'alcool de concentrations croissantes. Cette procédure se déroule généralement en cinq étapes : d'alcool de concentrations croissantes (de l'alcool à 50° jusqu'à l'alcool absolu 100°).

Cette progression graduelle permet un remplacement en douceur de l'eau par l'alcool, minimisant ainsi le stress sur les structures cellulaires et préservant leur intégrité. Une fois complètement déshydratés, les tissus sont prêts pour les étapes suivantes, telles que l'inclusion en paraffine, la coupe et la coloration, essentielles pour l'analyse histologique détaillée.

Après fixation au formol, on fait un rinçage à l'eau du robinet pour enlever l'excès du fixateur.

I.4.3. Imprégnation

Par le passage du prélèvement dans un liquide intermédiaire afin d'en éliminer les traces d'alcool absolu.

Dans cette étape d'imprégnation, le xylène ou le toluène est utilisé, un solvant intermédiaire favorable aux échanges membranaires entre l'alcool et le toluène et entre le toluène et la paraffine est utilisée.

Elle comporte une succession de 03 bains pour perfuser de façon homogène tous les prélèvements. Cette étape prépare l'inclusion vu que la paraffine est hydrophobe.

Il faut bien noter que chaque passage des 02 étapes ; déshydratation et imprégnation dure 01 heure de temps.

I.4.4. Inclusion (Enrobage)

Cette étape a pour but de permettre la réalisation de coupes fines et régulières (d'une épaisseur de 2 à 5 μm), Le milieu d'inclusion utilisé est la paraffine, qui remplit bien toutes les cavités tissulaires, fournit une consistance uniforme et ferme et fournit un soutien interne aux tissus.

Les échantillons ont été immergés dans de la paraffine fondue (chauffée à 56°C), donc se transforme en liquide et imprègne toute la pièce. Après 4 heures d'inclusion dans l'étuve, la paraffine liquide a été coulée dans des petits moules métalliques « Leuckart stick ». Après refroidissement à -20°C sur une plaque, puis les blocs sont démoulés. Au démoulage en vérifie que les blocs ne contiennent pas de bulles d'air et on doit éliminer tout excès de paraffine en dehors de la cassette.

I.4.5. Microtomie (coupe)

Un microtome peut trancher de façon transversale des tissus incrustés dans des blocs de paraffine en fines tranches de 5 micromètres.

Des rubans de paraffine très fins sont préparés et étalés dans un bain-marie à 37°C (dépliage du tissu) puis retirées de l'eau, placées sur une lame pour les mises à sécher.

La lame doit être clairement identifiée après la coupe à l'aide d'un stylo diamant.

Avant de couper il faut assurer que :

- Le bloc de paraffine doit être positionné correctement dans le porte-objectif de manière à ce qu'il soit parallèle au bord de la lame et selon un angle qui entre en contact avec l'arrière du bloc.

- Le bloc est rendu rugueux à 30 μm puis à 10 μm jusqu'à apparition d'empreintes de fragments, en veillant à ne pas perdre de fragments lors de l'ébauche.

I.4.6. Déparaffinage et Réhydratation

Comme son nom l'indique, le déparaffinage implique l'élimination de la paraffine, le milieu d'inclusion. Cette étape commence par le placement des lames sur une plaque chauffante à une température comprise entre 45 et 60°C pendant environ 15 minutes. Cela permet de liquéfier et d'éliminer les paraffines périphériques.

Ensuite, la réhydratation se fait à l'aide d'un automate, qui élimine la paraffine intracellulaire en plongeant les lames successivement dans des bains d'alcool de concentrations décroissantes. Le processus commence avec de l'alcool absolu à 100° et passe progressivement à des concentrations d'alcool de 95°, 85°, 70°, et enfin 50°. Cette série de bains permet de remplacer progressivement la paraffine par l'alcool, assurant ainsi une élimination complète.

Après cette étape, les lames sont immergées dans de l'eau distillée pour éliminer les résidus d'alcool et préparer les échantillons pour les étapes de coloration et d'observation histologique.

I.4.7. Coloration

Parce que la plupart des tissus sont transparents, il est nécessaire de réaliser une coloration des lames pour accentuer le contraste. Cela permet d'identifier distinctement les différents éléments du tissu.

Dans la coloration histologique, on utilise des colorants basiques et acides pour cibler spécifiquement différentes composantes cellulaires :

- Colorant basique : Ce type de colorant se lie aux substances acides de la cellule, telles que les acides nucléiques (ADN et ARN) présents dans le noyau. Un exemple courant de colorant basique est l'hématoxyline, qui colore le noyau en bleu ou violet.
- Colorant acide : En revanche, un colorant acide se lie aux substances basiques de la cellule, comme les protéines cytoplasmiques. Un exemple typique de colorant acide est l'éosine, qui colore le cytoplasme et les fibres extracellulaires en rose ou rouge.

Il existe des colorations de bases et d'autre spécifique ;

I.4.7.1.1. Coloration de base - Hématoxyline-éosine (H&E)

C'est la coloration histologique topographique. Un colorant basique appelé hématoxyline à une affinité pour les éléments cellulaires chargés négativement. En se fixant sur les acides nucléiques, il donne une teinte bleue ou violette aux noyaux.

L'éosine, en revanche, est un colorant acide qui a une affinité pour les éléments cellulaires chargés positivement. Il colore le cytoplasme en rose et les autres composants cellulaires basiques en rose ou rouge, selon leur acidophilie.

La coloration à l'hématoxyline-éosine est généralement suivie de la coloration spéciale (dites signalétiques). Ils incluent une grande variété de méthodes de coloration alternatives utilisées pour obtenir des informations supplémentaires sur les structures des échantillons particuliers. Les techniques de coloration spéciale se fondent plutôt qu'une fixation d'anticorps spécifiques sur des réactions chimiques simples telles que les réactions chimiques acido-basique, d'oxydation et de réduction (plus d'explication dans la partie bibliographique).

I.4.7.1.2. Coloration spéciale - May-Grünwald Giemsa (MGG)

La technique de la coloration de Giemsa repose sur l'utilisation du colorant Giemsa, qui est un colorant bleu neutre composé d'un colorant acide, l'éosine, et d'un colorant basique, l'azur de méthylène, qui est métachromatique et peut donner à certains tissus une teinte différente de sa couleur naturelle. Elle est réalisée sur des coupes en paraffines.

Elle permet de mettre en évidence la présence de microorganismes dans tous les types de tissus. Elle peut être utilisée pour identifier la présence d'*Helicobacter pylori* (coloré en bleu, avec sa forme caractéristique en « vol de mouette ») dans le traitement des gastrites chroniques ou des ulcères gastriques. Elle peut également détecter les parasites. De plus, elle permet de visualiser diverses cellules sanguines présentes dans les tissus hématopoïétiques.

Enfin, après chaque coloration les lames sont rincées à l'eau courante et récupérées pour le séchage pour procéder à leur montage.

I.4.8. Montage

L'étape se déroule sous une hotte chimique code interne selon les étapes suivantes :

- Déposer une goutte d'Eukitt à l'aide d'une pipette pasteur sur la lame colorée et séchée ;
- Tremper la lame dans le toluène ;
- Les coupes colorées sont montées entre lame et lamelle avec une résine synthétique «Baume de Canada » dont l'indice de réfraction est voisin de celui du verre.
- Marquer à l'aide d'un marqueur le code sur les lames préalablement gravées.

On dispose alors d'une « préparation microscopique » prête à être observée au microscope optique (MO).

NB : il faut éliminer les bulles d'air emprisonnées entre lame et lamelle surtout si elles se situent au niveau du tissu.



Figure 8 : Appareil de circulation



Figure 9 : Appareil d'enrobage



Figure 10 : Microtome



Figure 11 : Bain marie



Figure 12: Plaque congelée



Figure 13: Étuve



Figure 14: Appareil de déparaffinage



Figure 15: Appareil de montage et coloration



Figure 16: microscope optique



Figure 17: Incubateur

I.5. Examen microscopique

Après le montage des lames à coloration HE et/ou Giemsa nous avons procédé à l'interprétation (lecture des lames) en microscope optique à différents grossissements :

- **Pour les coupes colorées par HE**

Le grossissement 10 nous permet de mettre en évidence des aspects lésionnels et le grossissement 40 pour identifier la morphologie et l'architecture de l'épithélium des glandes et l'aspect de leurs cellules.

- **Pour les coupes colorées en Giemsa**

Le grossissement 40 est idéal pour identifier les bactéries appartenant au genre *Helicobacter* ainsi que les autres bactéries spiralées en se basant sur la présence de cellules phagocytaires au sein de l'épithélium et des glandes.

II. Résultats et Discussion

Avant d'aborder la partie résultats et discussion, il est important de noter que toutes les recherches sur la détection des bactéries spiralées dans les coupes histologiques chez les chiens ont été menées dans des pays industrialisés. À notre connaissance, aucune étude similaire n'a été réalisée en Algérie ni dans d'autres pays en développement.

L'étude présentée ici explore les résultats histopathologiques des observations gastriques ainsi que la prévalence des bactéries gastro-spiralées chez un groupe de chiens sélectionnés.

Ces résultats fournissent un aperçu crucial des conditions gastro-intestinales spécifiques rencontrées chez ces animaux, mettant en lumière l'interaction complexe entre la santé de la muqueuse gastrique et la présence de microorganismes pathogènes.

II.1. Observations macroscopiques

Sur les 10 sujets étudiés, **30% (3/10)** seulement ont présenté un aspect lésionnel au niveau gastrique. La figure 19 ainsi que le tableau 3 représentent les différents types de lésions rencontrées au cours de notre expérimentation.

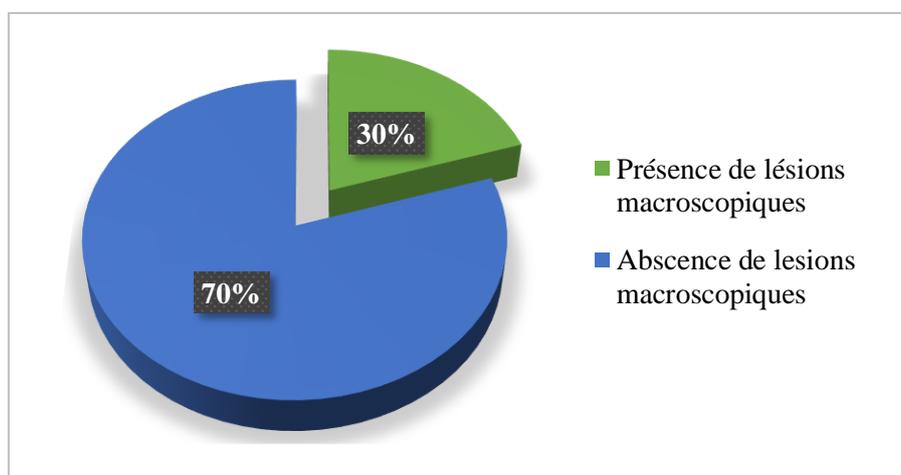


Figure 18: Répartition des sujets selon la présence ou non de lésions macroscopiques.

Les figures suivantes représentent l'aspect macroscopique des principales lésions rencontrées (désignées par flèches) au cours de notre étude.

des manifestations du tractus gastro-intestinal supérieur (GI) sans changements cliniques ou radiologiques spécifiques (**MALFERTHEINER et al., 2017**).

Chez les chiens, l'apparition soudaine de vomissements suspects d'être associés à une lésion ou à une inflammation de la muqueuse gastrique est généralement appelée « gastrite aiguë » (**DANDRIEUX, 2016**).

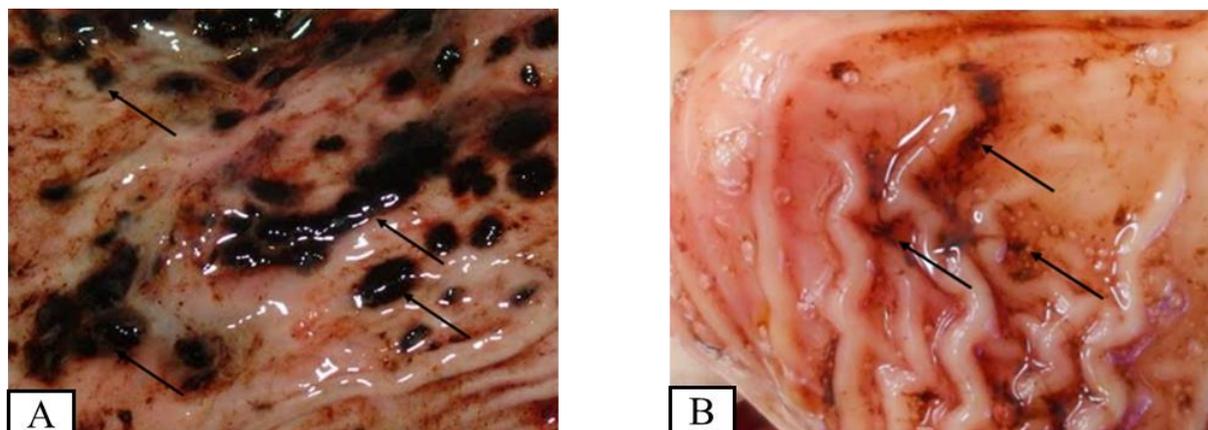


Figure 21 : Estomac d'un chien avec de petits ulcères gastriques (B) et avec ulcération profondes (A) (Photo personnelle)

La fréquence des lésions gastriques observées lors des autopsies chez les chiens peut varier en fonction de plusieurs facteurs, notamment l'âge des chiens, leur état de santé général, et les conditions sous-jacentes telles que les infections, les maladies inflammatoires, ou les conditions médicales préexistantes.

Selon des études, les lésions gastriques sont relativement fréquentes, surtout chez les chiens présentant des symptômes gastro-intestinaux (**LEIB et DUNCAN, 2002; SIMPSON et PAPICH, 2002**).

Les recherches indiquent que ces lésions incluent une variété de conditions telles que la gastrite, les ulcères gastriques, et d'autres formes de lésions inflammatoires ou dégénératives de la muqueuse gastrique (**WASHABAU, DAY, 2006**).

Ces études soulignent l'importance d'une évaluation histopathologique post-mortem détaillée pour caractériser pleinement l'étendue et la nature des lésions observées dans chaque cas individuel.

II.2. Observations histopathologiques

Nous avons constaté qu'une gastrite chez les chiens peut ne pas être visible autrement que sur une coupe histologique en raison de sa localisation dans la muqueuse gastrique.

Des **30** prélèvements issus de **10** chiens étudiés (trois prélèvements de chaque chien, comme cela est indiqué dans la partie Matériels et Méthodes).

Sur les 6 prélèvements issus de **2** chiens (**20 %**), la muqueuse était normale (figure 22), tandis que les 24 prélèvements restants provenant des 8 autres chiens (**80 %**) présentaient des changements histopathologiques indiquant différents degrés de gastrite dans diverses régions de l'estomac.

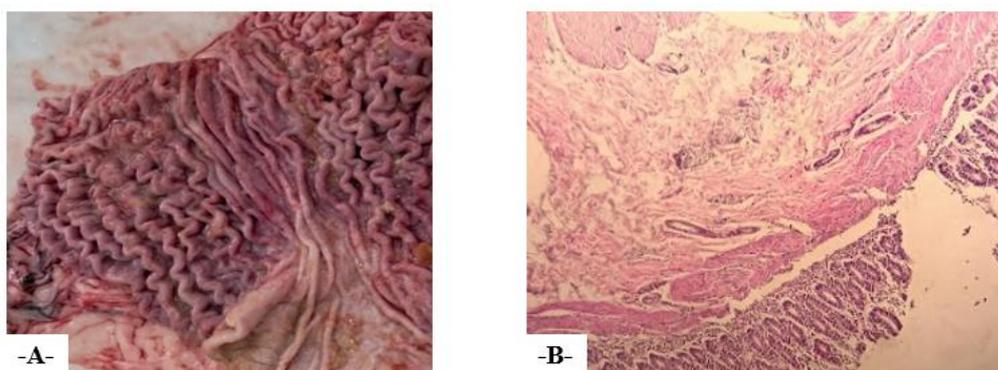


Figure 22: Muqueuse gastrique normale (-A- aspect macroscopique et -B- aspect microscopique) (photos personnelles).

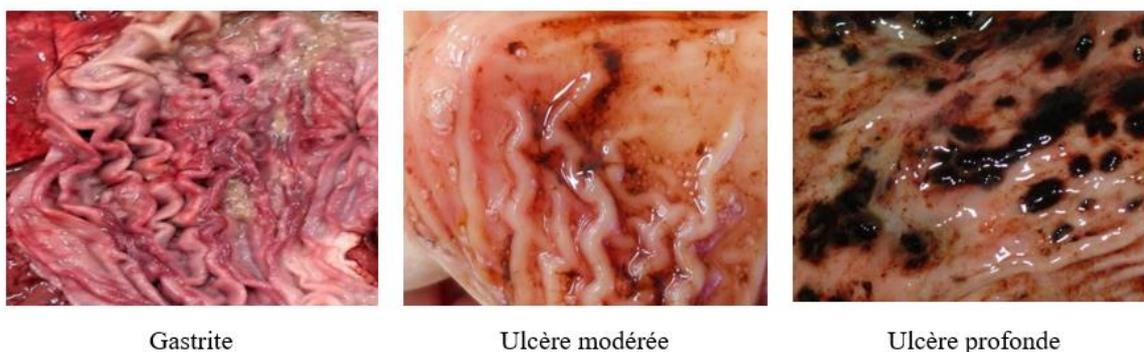


Figure 23: Différents degrés de gastrite.

Quatre chiens (**40%**) avaient une gastrite modérée, caractérisée par une dégénérescence épithéliale, des tissus glandulaires isolés montrant la présence de bactéries adhérant aux cellules épithéliales (figure 21-B- d'une gastrite modérée), tandis que **03** chiens (**30 %**) présentaient une gastrite marquée, avec nécrose de l'épithélium de la fosse gastrique, lobules glandulaires

en nid d'abeille, atrophie et raréfaction, infiltration lymphocytaire diffuse, et atrophie glandulaire (figure 21-A- d'une gastrite marquée).

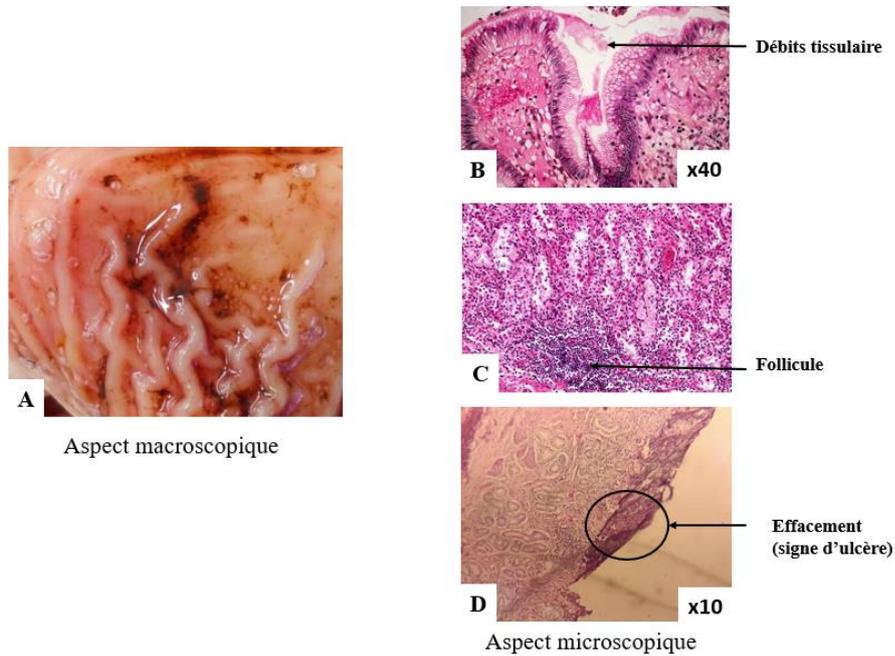


Figure 24: Présence de débits tissulaires avec follicule et un effacement de de la muqueuse gastrique d'un chien (photos personnelles).

Parmi ceux-ci, trois chiens (30%) présentaient une gastrite légère, principalement associée à une infiltration diffuse des lymphocytes intraépithéliaux et à une dégénérescence focale épithéliale superficielle (Figure 23 gastrite légère).

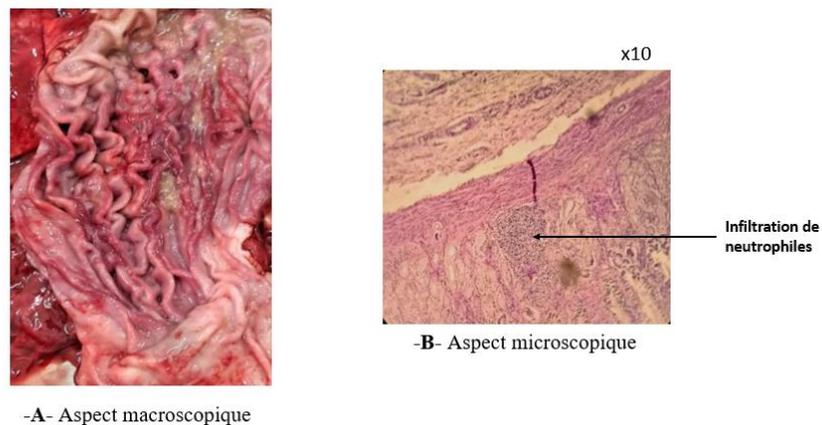


Figure 25 : Infiltrations de neutrophiles dans la muqueuse gastrique d'un chien (photos personnelles).

Les symptômes cliniques peuvent être absents ou non spécifiques, rendant difficile le diagnostic basé uniquement sur l'examen clinique. Ainsi, l'examen histologique des

échantillons de tissus permet souvent de détecter les changements microscopiques caractéristiques de l'inflammation gastrique, fournissant ainsi un diagnostic précis de la gastrite chez les chiens.

Tableau 3 : Degré de gastrite chez les chiens après étude histopathologique (n = 30).

Un chien est considéré comme porteur de lésions histologique si un des trois prélèvements réalisés est positif

| Lésions histologiques | Non infecté |
|-----------------------|-------------|
| Normal | 2 |
| Léger | 4 |
| Modéré | 2 |
| Ulcère gastriques | 2 |
| Total | 10 |

L'examen des coupes colorées à l'hématoxyline-éosine (Figure 25) a révélé des bactéries en forme de spirale ont été observées dans **un (01)** des **30** biopsies examinées.

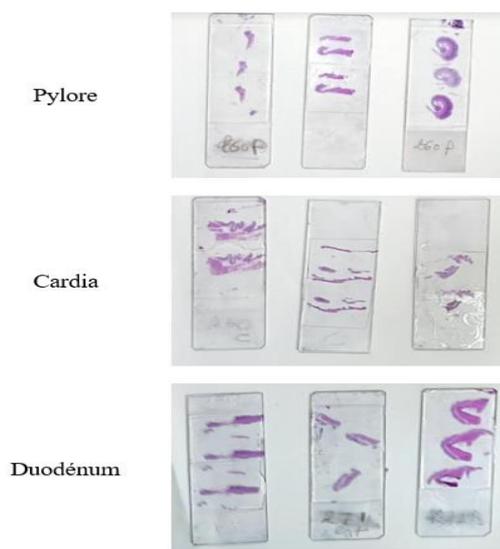


Figure 26: Coupe histologique colorées à l'hématoxyline-éosine (photos personnelles).

Cependant, il y avait une corrélation significative entre une gastrite légère et la présence de bactéries, mais aucune relation statistique n'a été trouvée entre le degré de gastrite et les signes cliniques (vomissements).

La relation entre les lésions gastriques chez les chiens et la présence de bactéries spiralées dans les coupes histologiques est bien documentée dans la littérature vétérinaire. Les infections bactériennes, y compris celles causées par des bactéries spiralées telles que *Helicobacter spp.*

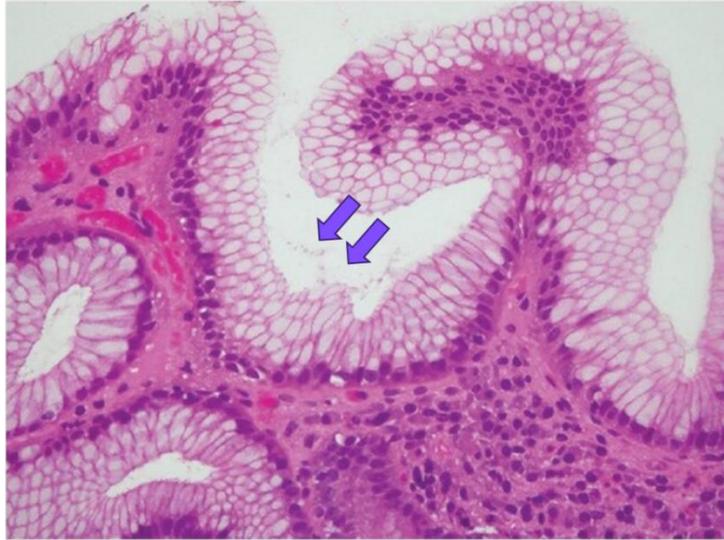


Figure 27: Muqueuse gastrique montrant plusieurs organismes gastro spirales (HE, ×20) (photo personnelle).

La prévalence de la présence de bactéries gastro-spirales, telles que *Helicobacter pylori*, chez les chiens peut varier en fonction de divers facteurs, y compris la région géographique, les conditions d'hygiène, et les méthodes de détection utilisées. *Helicobacter pylori* est généralement associé aux infections gastriques chez les humains, mais chez les chiens, d'autres espèces de *Helicobacter* peuvent être plus couramment trouvées.

À titre indicatif, les études vétérinaires suggèrent que *Helicobacter heilmannii*, une espèce apparentée, peut être présente chez environ 50 à 80 % des chiens. Cependant, la prévalence spécifique de chaque espèce de *Helicobacter* chez les chiens peut varier considérablement en fonction des études et des populations étudiées.

Conclusion et recommandation

Dans cette étude, nous avons analysé 30 prélèvements histologiques d'estomacs de 10 chiens obtenus lors d'autopsies, afin de détecter la présence de bactéries gastrospirales. Nous avons identifié des bactéries gastrospirales dans un des échantillons examinés, mettant en lumière une prévalence relativement faible dans notre échantillon.

De manière significative, nous n'avons observé aucune corrélation positive entre l'étendue des lésions gastro-intestinales et la présence de bactéries spirales. Notamment, nous avons détecté des bactéries spirales dans un estomac qui ne présentait aucune lésion macroscopique visible.

Ces résultats suggèrent que la colonisation par des bactéries gastrospirales peut être présente même en l'absence de signes macroscopiques de pathologie gastrique. Cette constatation soulève des questions importantes sur les mécanismes de colonisation et les effets potentiels sur la santé digestive des chiens, nécessitant ainsi des investigations approfondies pour mieux comprendre leur rôle dans ces contextes.

Pour approfondir notre compréhension des interactions entre les bactéries gastrospirales et la santé gastro-intestinale des chiens, il est vivement recommandé d'étendre l'échantillonnage à un nombre plus élevé de prélèvements. Une étude avec un échantillon plus large permettrait de mieux caractériser la prévalence, les mécanismes de colonisation et l'impact potentiel de ces bactéries, même en l'absence de lésions macroscopiques.

Cela fournirait une base solide pour des recommandations cliniques plus précises et une gestion efficace des affections gastro-intestinales chez les chiens.

Annexe 01: Fiche de renseignement

1- Informations Générales :

- Nom du chien :
- Race :
- Sexe :
- Âge :

2- Informations sur le Propriétaire :

- Nom :
- Adresse :
- Téléphone :
- Email :

3- Signes Cliniques Avant le Décès :

- Symptômes observés
- Durée des symptômes :
- Consultation vétérinaire récente
- Traitement prescrit :

4- Examen Externe :

- Poids :
- Taille :
- Condition corporelle
- Signes externes notables :

5- Prélèvements :

- Échantillons prélevés : estomac (pylore, cardia) duodénum
- Analyses demandées : histologie

Annexe 02 : Fiche technique de coloration HE (hemalun éosine)

- 1- Principe : coloration des noyaux par une plaque aluminique basique l'hémalun (violet foncé) et le fond par un seul colorant acide l'éosine (rose pâle)
- 2- Réactifs : Hematoxyline de Harris.
Eosine à 1.5%.
- 3- Mode opératoire :
 - Déparaffiner : 5min xylène.
7min xylène.
 - Hydrater : à 100° pendant 60s
à 90° pendant 60s
à 70° pendant 60s
 - Coloration : l'hématine 1min30s.
Laver pendant 3min à l'eau courante.
L'éosine pendant 3min.
Rinçage rapide.
 - Déshydratation : à 70° pendant 30s
à 90° pendant 60s
à 100° pendant 60s
 - Eclaircir : 2 bains × 5min de xylène (ou toluène)
- 4- Montage : résine (Eukitt)
- 5- Lecture microscopique

Références

A

- Ali, M., Nelson, A. R., Lopez, A. L., & Sack, D. A. (2015). Updated global burden of cholera in endemic countries. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 9(6), e0003832.
- Argenio et al., *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20(3):568-574, 2006.

B

- Bacha, W. J., & Bacha, L. M. (2016). *Color Atlas of Veterinary Histology* (3rd ed.). Wiley-Blackwell.
- Bacha, W. J., Jr., & Bacha, L. M. (2012). *Color Atlas of Veterinary Histology* (3rd ed.). Wiley-Blackwell.
- Bäckhed, F., Ley, R. E., Sonnenburg, J. L., Peterson, D. A., & Gordon, J. I. (2005). Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science*, 307(5717), 1915-1920.
- Baker-Austin, C., Oliver, J. D., Alam, M., Ali, A., Waldor, M. K., Qadri, F., ... & Martinez-Urtaza, J. (2018). *Vibrio* spp. infections. *Nature Reviews Disease Primers*, 4, 8.
- Baker-Austin, C., Trinanès, J., Gonzalez-Escalona, N., & Martinez-Urtaza, J. (2017). Non-cholera vibrios: The microbial barometer of climate change. *Trends in Microbiology*, 25(1), 76-84.
- Bancroft, J. D., & Gamble, M. (2019). *Theory and Practice of Histological Techniques* (8th ed.). Elsevier.
- Bauman, J. G., Wiegant, J., Borst, P., van Duijn, P. A. "A new method for fluorescence microscopical localization of specific DNA sequences by in situ hybridization of fluorochromelabelled RNA." *Experimental Cell Research*, vol. 128, no. 2, 1980, pp. 485-490.
- Beloshapka, A. N., Duclos, L. M., Vester Boler, B. M., Swanson, K. S., & Dowd, S. E. (2013). Impact of exogenous enzymes on digestibility, total tract and hindgut fermentation profiles, and microbial populations in the gastrointestinal tract of dogs fed a fiber-containing diet. *Journal of Animal Science*, 91(2), 935-947.
- Beveridge, T. J. (2001). Use of the gram stain in microbiology. *Biotechnic & Histochemistry*, 76(3), 111-118.
- Boron, W. F., & Boulpaep, E. L. (2020). *Medical Physiology*. Elsevier Health Sciences.

C

- Christopher D. M. Fletcher « *Diagnostic Histopathology of Tumors* » 2020.

D

- Dupont, P., Martin, L., & Rousseau, J. (2023). Diagnostic et quantification des *Helicobacter non-pylori* dans la muqueuse gastrique humaine. *Revue de Gastroentérologie Clinique*, 48(2), 123-134.

F

- Fitzgerald, C., Patrick, M., Gonzalez, A., Akin, J., & Polage, C. R. (2020). *Campylobacter* infections in low and middle income countries: Overview of the disease and status of surveillance networks in Latin America. *Journal of Infection in Developing Countries*, 14(3), 232-238.
- Flahou, B., Haesebrouck, F., Smet, A., & Pasmans, F. (2020). *Helicobacter* species in domestic animals and nonhuman primates and their zoonotic potential. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 84(1), e00074-19.
- Foster, J. A., & Neufeld, K. A. M. (2013). Gut-brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression. *Trends in Neurosciences*, 36(5), 305-312.

G

- Garcia-Mazcorro, J. F., et al. (2011). Effect of a multi-species symbiotic formulation on fecal microbiota in dogs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 95(1), 90-97.
- Gartner, L. P., & Hiatt, J. L. (2021). *Color Atlas and Text of Histology* (8th ed.). Lippincott Williams & Wilkins.
- Ghosh, S., Pazhani, G. P., Chowdhury, G., Nair, G. B., & Ramamurthy, T. (2014). Transferable plasmid-mediated quinolone resistance in association with extended-spectrum β -lactamases and fluoroquinolone-acetylating aminoglycoside resistance genes in clinical isolates of *Vibrio fluvialis*. *Journal of Medical Microbiology*, 63(Pt 11), 1546–1552.
- Giaretta, P. R., Rech, R. R., Guard, B. C., Blake, A. B., Blick, A. K., Steiner, J. M., ... & Suchodolski, J. S. (2020). Influence of antibiotics on systemic and intestinal microbiota and antibiotic-associated diarrhoea in dogs. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 64(5), e01963-19.
- Gómez-Gallego, C., et al. (2021). A canine-specific probiotic product containing *Lactobacillus fermentum* and *Lactobacillus rhamnosus* shows potential in the management of canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 32(5), 469-e126.
- Gropper, S. S., Smith, J. L., & Carr, T. P. (2022). *Advanced Nutrition and Human Metabolism* (8th ed.). Cengage Learning.

- Guyton, A. C., & Hall, J. E. (2021). *Textbook of Medical Physiology*. Elsevier.

H

- Haesebrouck, F., Pasmans, F., Flahou, B., Chiers, K., Baele, M., Meyns, T., Decostere, A., & Ducatelle, R. (2010). Gastric Helicobacters in Domestic Animals and Nonhuman Primates and Their Significance for Human Health. *Clinical Microbiology Reviews*, 22(2), 202-223.
- Hall, J. E. (2020). *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology (14th ed.)*. Saunders. ISBN: 978-0323597128.
- Hofmann, A. F., & Hagey, L. R. (2014). "Bile Acids: Chemistry, Pathophysiology, and Therapeutics". In *Handbook of Experimental Pharmacology* (Vol. 216). Springer.
- Howard E. Evans, Alexander de Lahunta 2013 "Miller's Anatomy of the Dog" p260-265.

I

- Igor Buchwalow et Werner Böcker "Immunohistochemistry: Basics and Methods". Éditions Springer, 2010.
- Isabelle Fournier "Anatomie et Fonctionnement de la Cavité Buccale chez le Chien" *Journal de Médecine Vétérinaire*, Vol. 32, No. 4, 2022, pp. 210-225.

J

- James G. Cunningham 2012 *Textbook of Veterinary Physiology* p300-305.
- Jean Dupont "Anatomie et Fonctionnement de l'Estomac chez le Chien" *Revue des Sciences Vétérinaires*, Vol. 40, No. 3, 2023, pp. 145-160.
- John D. Bancroft, Marilyn Gamble « Churchill Livingstone » 6th edition, 2008, Chapitre 7, pp. 123-144.
- Jones, M. K., Oliver, J. D., & Baker-Austin, C. (2021). *Vibrio vulnificus*: Disease and pathogenesis. *Infection and Immunity*, 89(2), e00766-20.

K

- K. M. Dyce, W. O. Sack, C. J. G. Wensing, 2010 *Textbook of Veterinary Anatomy* p110-115.
- Kivi, M., & Tindberg, Y. (2019). Helicobacter species in domestic animals and their zoonotic potential. *Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 28(7), 523-534.
- Konig, H. E., & Liebich, H. G. (2020). *Veterinary Anatomy of Domestic Mammals: Textbook and Colour Atlas (7th ed.)*. Schattauer.

L

- Levican, A., Collado, L., Figueras, M. J. (2013). *Arcobacter cloacae* sp. nov. and *Arcobacter suis* sp. nov. two new species isolated from food and sewage. *Systematic and Applied Microbiology*, 36(1), 22-27.

M

- Marie Dubois « Journal de Pathologie Clinique », Vol. 25, No. 2, 2021, pp. 78-92.
- Megraud, F., & Lehours, P. (2007). *Helicobacter pylori* detection and antimicrobial susceptibility testing. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(2), 280-322.
- Middelbos, I. S., Godoy, M. R. C., Fastinger, N. D., & Fahey Jr, G. C. (2007). A dose-response evaluation of spray-dried yeast cell wall supplementation of diets fed to adult dogs: effects on nutrient digestibility, immune indices, and fecal microbial populations. *Journal of Animal Science*, 85(11), 3022-3032.
- Mobley, H. L. T., & Mendz, G. L. (2001).
- Mondo, E., et al. (2019). Gut microbiome structure and adrenocortical activity in dogs with a history of aggression. *Behavioral Brain Research*, 363, 40-48.
- Mortensen, N. P., Frstrup, I., & Kroghfelt, K. A. (2020). The role of pathogenic oral bacteria in systemic infections in critically ill patients. *Oral Microbiology and Immunology*, 35(3), 157-169.

P

- Pech Michel "Anatomie et Physiologie du Système Digestif du Chien" *Revue Vétérinaire Clinique*, Vol. 45, No. 2, 2021, pp. 123-135.
- Peterson, C. T., Sharma, V., Elmen, L., & Peterson, S. N. (2015). Immune homeostasis, dysbiosis and therapeutic modulation of the gut microbiota. *Clinical & Experimental Immunology*, 179(3), 363-377. DOI: 10.1111/cei.12474.
- Philippe Leclerc « Revue de Pathologie Clinique et Expérimentale », Vol. 39, No. 2, 2021, pp. 112-125.

R

- Ross, M. H., Pawlina, W. *Histologie fonctionnelle*. 7e édition. Paris : Elsevier Masson, 2019.

S

- Samuelson, D. A. (2013). *Textbook of Veterinary Histology* (2nd ed.). Wiley-Blackwell.
- Schmidt, M., Unterer, S., Suchodolski, J. S., Honneffer, J. B., Guard, B. C., Lidbury, J. A., & Unterer, L. (2020). The fecal microbiome and metabolome differs between dogs fed

Bones and Raw Food (BARF) diets and dogs fed commercial diets. *PLOS ONE*, 15(8), e0236091.

- Sheehan et Hrapchak « Theory and Practice of Histotechnology », 2012, St. Louis, MO: Mosby.
- Shirazi, M. S., & Rasouli, H. (2021). The canine gastrointestinal microbiome: a perspective on diet and its influence on the composition and function of the gut microbiota. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 666722.
- Silva, J., Leite, D., Fernandes, M., Mena, C., Gibbs, P. A., & Teixeira, P. (2011). *Campylobacter* spp. as a Foodborne Pathogen: A Review. *Frontiers in Microbiology*, 2, 200.
- Simpson, K.W., Strauss-Ayali, D., & Shapiro, K. (2020). "Helicobacter in Cats and Dogs." In *Greene's Infectious Diseases of the Dog and Cat* (5th ed.), edited by Jane E. Sykes, 391-396. Elsevier.
- Smith, A. M., et al. "Recent advances in autoradiography for the evaluation of drug distribution in tissues." *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, vol. 17, no. 5, 2021, pp. 499-511.
- Sophie Martin « Revue de Pathologie Clinique et Expérimentale », Vol. 38, No. 1, 2020, pp. 45-60.
- Stevens, A., Lowe, J. S. (éditeurs). *Histologie humaine: les fondamentaux*. 4e édition. Elsevier Masson, 2013.
- Swenson, M. J., & Reece, W. O. (2013). *Dukes' Physiology of Domestic Animals* (13th ed.). Wiley-Blackwell.

T

- Tappenden, K. A., & Deutsch, A. S. (2007). The physiological relevance of the ileal brake—impact of ileal infusion of nutrients on satiety, glucose-homeostasis, and gastrointestinal motility. *Physiology & Behavior*, 92(1-2), 234-238.
- Tim D. Hewitson, Ian A. Darby « Histopathology: Methods and Protocols », 2014, New York, NY: Springer.

V

- Verner-Jeffreys, D. W., Welch, T. J., Schwarz, T., Pond, M. J., Woodward, M. J., & Haig, S. J. (2009). High prevalence of multidrug-tolerant bacteria and associated antimicrobial resistance genes isolated from ornamental fish and their carriage water. *PLOS ONE*, 4(12), e8388.

Y

- Yamaoka, Y. (2010). Mechanisms of disease: Helicobacter pylori virulence factors. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 7(11), 629-641.

Z

- Zhang et al., Veterinary Microbiology, 204:93-104, 2017.