

page da garde.pdf

FFE.pdf

Annexe 03.pdf

Résumé.docx

## ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE VÉTÉRINAIRE

Projet de Fin d'Etudes

En vue de l'obtention du

**Diplôme de Docteur Vétérinaire**

### **Recherche des bactéries spiralées dans le tube digestif des bovins abattus dans quelques abattoirs de la wilaya de Bouira**

Présenté par : Mr. SADOUN Adel.

Soutenu le : 19 Juin 2016

**Devant le jury compose de :**

-Président	Dr.Hachemi A	Maitre assistante classe A	ENSV
-Promotrice	Dr.Guessoum M	Maitre assistante classe A	ENSV
-Examineur 1	Dr.Ben Atalah A	Maitre de conférences	ENSV
-Examineur 2	Dr.Ben Mohand C	Maitre assistante classe A	ENSV

Année universitaire :

**2015-2016**

## Remerciements

*À Madame Guessoum M.  
Maître assistante classe A à l'ENSV*

*Qui a suggéré ce sujet et aimablement accepté d'encadrer mon travail,  
Qu'elle trouve ici l'expression de ma reconnaissance la plus sincère.*

*À Madame Hachemi A.  
Maître assistante classe A à l'ENSV*

*Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de  
thèse*

*À Mlle Ben Atalah A  
Maître de conférences à l'ENSV*

*Qui a aimablement accepté de faire partie de notre jury de thèse,  
Sincères remerciements.*

*À Mlle Mohand C.  
Maître assistante classe A à l'ensv*

*Qui a accepté de faire partie de notre jury de thèse.  
Sincères remerciements.*

*Je suis profondément reconnaissant à toute l'équipe de travail des  
deux abattoirs de Lakhdaría et d'Ain Bessam : les Gérants, les  
vétérinaires inspecteurs ainsi que tout le personnel.*

*Je n'oublierai pas les moments agréables que j'ai passés au Laboratoire  
central de bactériologie clinique au sein de CHU Hussein Day (ex  
Parnet) et au laboratoire d'anapathologie. Je tiens en particulier, à  
manifester toute mon affection et mon amitié à tous ce qui ont  
contribué à faire régner la bonne ambiance notamment à ceux avec  
qui j'ai partagé les paillasses.*

## Dedicaces

*Je dédie ce travail à :*

*Mes chers parents*

*J'ai atteint le but aujourd'hui grâce à vos soutiens et vos prières et vos sacrifices sans vous je ne serai pas là.*

*Je demande le dieu vous garde.*

*Mes frères et mes sœurs*

*Et toute la famille SADOUN*

*Mes amis*

*Pour leur aide et soutiens*

*DOCTEUR Aïgoun fares*

*Qui m'a ouvert les portes de son cabinet*

**Liste des figures**

<b>Figure 01</b> : Aspect histologique général de tube digestif .....	5
<b>Figure 02</b> : Structure histologique du rumen.....	6
<b>Figure 03</b> : Forme spiralée des Helicobacter (Micrographie électronique).....	9
<b>Figure 04</b> : Forme spiralée des Campylobacter (Micrographie électronique) .....	11
<b>Figure 05</b> : aspect non lésionnel de la caillette.....	17
<b>figure06</b> : aspect lésionnel de la caillette.....	17
<b>Figure07</b> : biopsie dans le formol.....	17
<b>Figure 08</b> : Appareil de circulation .....	20
<b>Figure09</b> : Appareil d'enrobage.....	20
<b>Figure 10</b> : Microtome .....	20
<b>Figure 11</b> : Bain marie.....	20
<b>Figure 12</b> : Plaque congelée.....	20
<b>Figure13</b> : Étuve.....	20
<b>Figure14</b> : Appareil de déparaffinage.....	20
<b>Figure15</b> : Appareil de montage et coloration.....	20
<b>Figure16</b> : Microscope optique.....	20
<b>Figure17</b> : Incubateur .....	20
<b>Figure18</b> : : Réaction d'urée négatif (à gauche) et positive (à droite).....	21
<b>Figure19</b> : les étapes d'imprégnation.....	22
<b>figure20</b> : réalisation des coupes.....	23
<b>Figure21</b> : coloration et déparaffinage.....	23
<b>Figure 22</b> : Répartition des animaux selon le sexe.....	25
<b>Figure 23</b> : Répartition des sujets selon la présence ou non de lésions macroscopiques.....	26
<b>Figure 24</b> : Nature des lésions observées.....	27
<b>Figure 25</b> ::kératose.....	28
<b>Figure 26</b> ::Inflammation/ Caillette.....	28
<b>Figure 27</b> :Inflammation du rumen+ ulcération.....	28
<b>Figure 28</b> :Réticulite.....	29
<b>Figure 29</b> : Fréquence de détection de bactéries spiralée.....	29
<b>Figure 30</b> : Helicobacter spp. En coloration Giemsa (Témoin positive).....	30

## Liste des figures des tableaux et des annexes

---

<b>Figure 31</b> : Bactéries spiralées- en coloration Giemsa Gr. 40.....	30
<b>Figure 32</b> : Bactéries spiralées+ en coloration Giemsa Gr. 40.....	30
<b>Figure 33</b> : Bactéries spiralées+ en coloration Giemsa.....	30
<b>Figure 34</b> : Bactéries spiralées+ en coloration Giemsa.....	30

### Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b> : Helicobacter gastriques .....	10
<b>Tableau 02</b> : Répartition des sujets selon la race.....	24
<b>Tableau 03</b> : Fréquence de lésions gastriques rencontrées.....	25

### Liste des annexes

<b>Annexe I</b>	Fiche de renseignement
<b>Annexe II</b>	Protocol Giemsa
<b>Annexe III</b>	Protocole HE



## Sommaire

Remerciements

Dedicaces

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des annexes

Sommaire

Introduction .....	10
Partie bibliographique .....	2
I. Histologie de tube digestif des bovins.....	3
I.1. Rappel de l'histologie générale de tube digestif .....	3
1. La muqueuse.....	3
2. La musculaire-muqueuse.....	4
3. La sous-muqueuse .....	4
I.2. Histologie de l'estomac des bovins.....	6
1. Rumen .....	6
2. Réseau (Reticulum) .....	7
3. Omasum (feuillet).....	7
4. Caillette .....	7
II. Bactéries spiralées de tube digestif des bovins.....	9
I.1. Helicobacter .....	9
I.2. Campylobacter .....	11
I.3. Autres bactéries.....	12
1. Vibrion.....	12
2. Arcobacter .....	12
III. Techniques de diagnostic histologique.....	13
III.1. Préparation des prélèvements .....	13
1. Prélèvements .....	13
III.2. Techniques de détection in situ .....	14
1. Histochimie ( .....	14
2. Histochimie enzymatique .....	15
3. Historadiographie .....	15
Objectif.....	17

I.	Matériels et méthodes.....	17
1.	Type et période d'étude.....	17
2.	Nombre de prélèvements.....	17
3.	Matériels utilisés.....	18
4.	Méthodes.....	20
II.	Résultats et discussion.....	25
II.1.	Données concernant l'Animal.....	25
1.	Répartition des bovins selon le sexe.....	25
2.	Répartition des bovins selon l'age et la race.....	25
3.	Étude macroscopique.....	26
4.	Résultats histologiques.....	29
5.	Test d'Urée.....	31
6.	Corrélation entre les paramètres étudiés.....	31
	Conclusion.....	32
	Reference bibliographique	
	Annexes	

Annex I:fiche de renseignement

annex II: Fiche technique de Coloration au Giemsa (OMS, 1994)

annex III:

## Introduction

Les surfaces des voies digestives de la plupart des animaux sont révélés être colonisés par des populations hautement spécialisées de micro-organismes.

Ces bactéries se sont adaptées à la niche écologique particulière de mucus digestif et partager plusieurs propriétés communes, à savoir, la forme spiralée ou la morphologie hélicoïdale et la micro-aérophilie (**Danon et Lee., 2001**).

Les bactéries en forme de spirale sont des habitants normaux des glandes fundiques d'un certain nombre d'espèces animales, par exemple, les chats et les chiens (**Svec et al., 2000**). Bien qu'aucun de ces organismes n'a été cultivé, il y a eu un certain nombre de rapports décrivant leur distribution dans les tissus gastriques et détails de l'ultrastructure.

L'intérêt porté pour ces bactéries de forme spiralée qui colonisent la muqueuse gastrique a augmenté suite à l'isolement de la bactérie *Campylobacter pylori* (*Helicobacter pylori* actuellement) à partir des biopsies gastriques des patients souffrant de gastrites (**Danon et Lee, 2001**).

Les Preuves que ces organismes jouent un rôle comme un agent étiologique de l'inflammation dans l'estomac humain et animal 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., 2005**).

En Algérie, l'étude des bactéries sur des biopsies gastriques par des techniques histologiques a fait l'objet de peu d'investigations : La plupart des données dans ce sens ont été faites chez les humains.

Le manque de données est à l'origine de notre travail qui a pour objectif la recherche des bactéries spiralées (principalement *Helicobacter pylori*) dans le tube digestif des bovins sur des prélèvements réalisés à partir des lésions de l'appareil gastriques.

# Partie bibliographique

## I. Histologie de tube digestif des bovins

Afin de comprendre comment reconnaître les lésions du tube digestif en histologie et détecter les bactéries spiralées, il est important de connaître son architecture tissulaire et le type de cellules qui le constituent.

Nous rappellerons donc dans un premier temps l'aspect histologique normal des différentes régions du tractus digestif, avant de nous intéresser à l'aspect histologique de l'estomac.

### I.1. Rappel de l'histologie générale de tube digestif

D'après **Bacha et al., 2002 ; Jergens et al., 2011**, quelle que soit la partie de tube digestif considérée, il existe un patron commun d'organisation.

Chacun de ces organes présente des adaptations morphologiques spécifiques à sa fonction, mais ils comportent tous une organisation commune. Ils sont constitués de cinq couches concentriques, superposées les unes aux autres depuis la lumière de façon centrifuge :

#### 1. La muqueuse

Tout organe en contact avec le milieu extérieur présente une tunique muqueuse.

Elle est tapissée par une couche de mucus : substance visqueuse composée de cellules épithéliales desquamées, de leucocytes et de mucine. Cette dernière est produite par des cellules glandulaires dites mucipares.

La muqueuse est elle-même constituée de deux couches :

- L'épithélium :

Il s'agit de la couche la plus externe. Il est stratifié, pavimenteux et squameux depuis la cavité buccale jusqu'à l'estomac non glandulaire, ainsi qu'au niveau du canal anal.

Il est cylindrique et simple pour le reste du tube digestif (estomac glandulaire, intestin grêle et la majorité du gros intestin).

Il s'invagine en de nombreux endroits dans le chorion pour former des glandes.

• *La lamina propria* ou *chorion* : Séparée de l'épithélium par une lame basale, il s'agit d'un tissu conjonctif constitué de collagène et de fibres élastiques. Elle contient également du tissu lymphoïde, avec des lymphocytes T et B immunocompétents, présent de manière diffuse ou sous forme de nodules. Elle assure, par sa vascularisation sanguine et lymphatique, la nutrition de l'épithélium sus-jacent. C'est un tissu innervé, où s'enfoncent en outre des glandes muqueuses, aux caractéristiques variables selon la partie du tube digestif considérée.

### 2. La musculaire-muqueuse

Elle n'est pas toujours présente, et consiste en une à trois couches de fibres musculaires lisses, permettant les mouvements indépendants de la muqueuse et aidant à la sécrétion des glandes. Elle est considérée comme la troisième couche de la muqueuse par les anglo-saxons.

### 3. La sous-muqueuse

Selon Paul W. L, Kwan, 2010 Il s'agit d'un tissu conjonctif, souvent plus dense que la lamina propria. Elle présente un drainage vasculaire et lymphatique, et possède, avec les plexus de Meissner, une innervation ganglionnaire du système nerveux autonome. Elle contient parfois des glandes sous muqueuses.

### 4. La musculuse

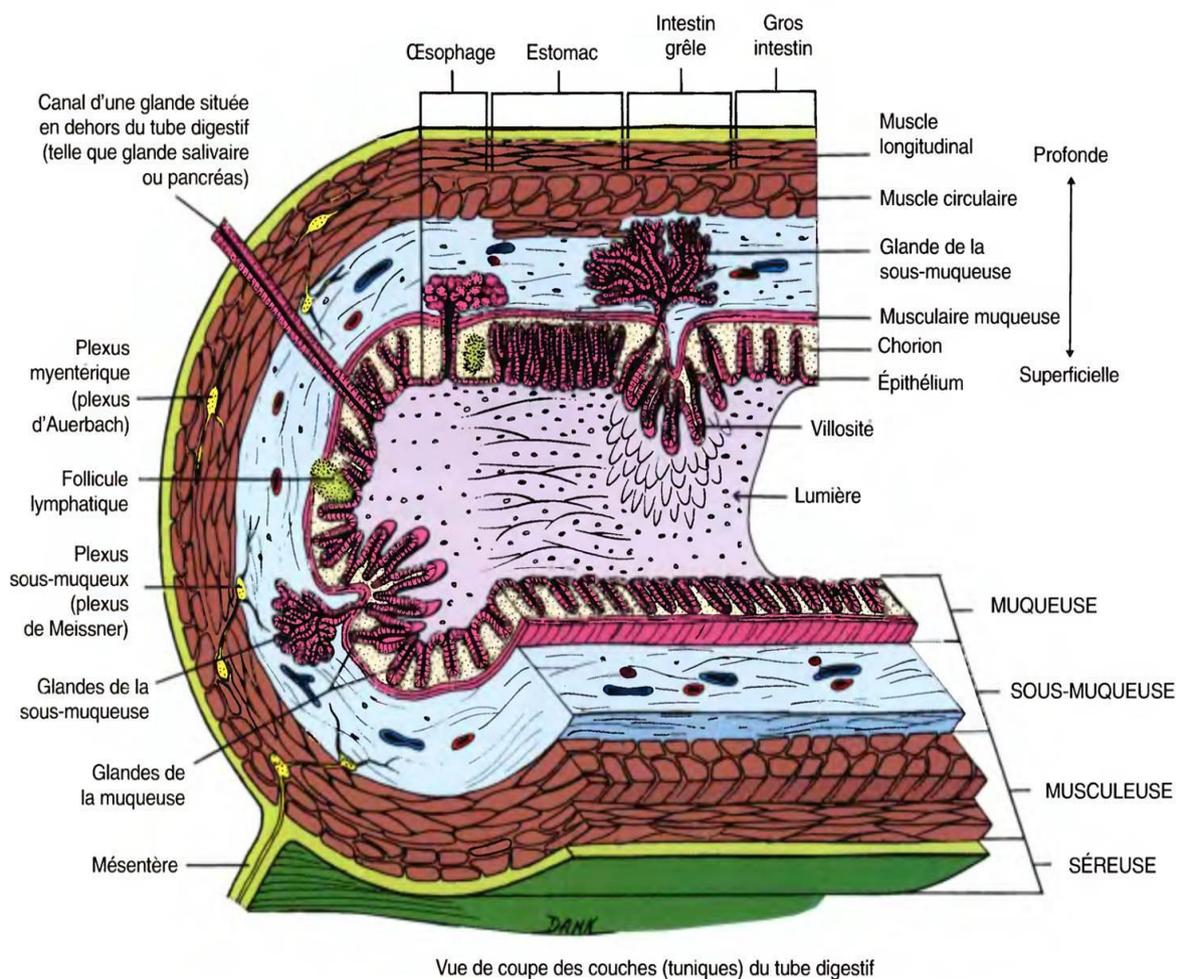
D'après Paul W. L, Kwan, 2010 la musculuse permet la fragmentation et le déplacement du bol alimentaire par péristaltisme, ainsi que le mélange avec les sécrétions glandulaires digestives. Cette couche est la plus épaisse. Il s'agit de fibres musculaires lisses. organisées en deux couches concentriques : dans la plus interne les fibres sont perpendiculaires à l'axe du tube digestif et dites circulaires, dans la plus externe, elles sont parallèles à cet axe, et dites longitudinales. Entre ces deux couches se trouvent les plexus nerveux ganglionnaires myentériques ou d'Auerbach. Les cellules interstitielles de Cajal, non distinguables des fibres musculaires lisses en coloration classique (Hémalum-Eosine-Safran ou HES), sont responsables de l'activité électrique du muscle lisse. Par l'initiation d'ondes électriques lentes, elles constituent le pacemaker des fibres musculaires

digestives. On utilisera une coloration au bleu de méthylène si l'on souhaite les mettre en évidence.

### 5. La séreuse ou adventice

Selon Seck M.T et al., 2007 ; Les séreuses sont présentes sur les organes localisés dans la région pleurale, péri cardiale ou péritonéale. Une séreuse est constituée d'un tissu conjonctif classique, recouvert par un mésothélium. Elle entoure la majorité du tube digestif, excepté la partie cervicale de l'œsophage, où l'on trouve en lieu et place de la séreuse, une couche appelée adventice.

La figure suivante (**Figure 1**) représente l'organisation schématique générale de l'appareil digestif.



**Figure 01** : Aspect histologique général de tube digestif  
(Anonyme, 2015)

## I.2. Histologie de l'estomac des bovins

Selon **Bacha et al ( 2002 )** ; Chez les bovins ( **ruminants**) l'estomac comporte quatre parties:

- a. Rumen
- b. Réticulum
- c. Omasum
- c. Caillette

Les trois premières parties forment histologiquement le préestomac et sont tout à fait différente de la caillette qui est similaire à l'estomac glandulaire.

### 1. Rumen (Seck M.T et al., 2007)

La paroi du rumen est constituée de quatre couches : la muqueuse , la sous muqueuse, la musculuse et la séreuse .

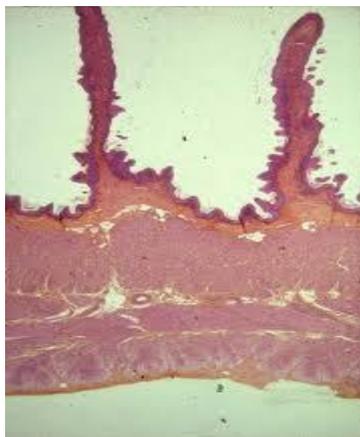
La muqueuse porte des papilles soutenues par un axe conjonctif. Cette muqueuse est composée de franges bordées par un épithélium malpighien pluristratifié. C'est un épithélium pavimenteux kératinisé reposant sur un chorion dense dans lequel sont présents des vaisseaux sanguins.

La sous-muqueuse, de nature conjonctive, est également riche en vaisseaux.

La musculuse présente une couche interne (cellules musculaires lisses circulaires) et une couche externe (cellules musculaires lisses à disposition longitudinale).

Les vaisseaux sont moins nombreux à ce niveau.

La séreuse est de nature conjonctive.



**Figure 02** : structure histologique du rumen  
(**Kühnel, 1997**)

### 2. Réseau (Reticulum)

Selon **Bernex, 2006**, la muqueuse de réseau se caractérise par une alternance de grands plis primaires responsables du découpage de la surface de cette poche en territoires hexagonaux(en « nid d'abeilles ») et de plis secondaires, moins élevés, subdivisant chaque alvéoles ne logettes plus petites.

Le revêtement épithélial du réseau est identique à celui du rumen. L'axe conjonctif des plis primaires abrite dans sa partie supérieure du muscle lisse. Le territoire musculaire est en relation avec la musculaire muqueuse de l'œsophage et se prolonge d'un pli à l'autre à la manière d'un réseau.

### 3. Omasum (feuillet) (Paul, Kwan, 2010)

Chaque repli du feuillet porte sur ses flancs des papilles arrondies.La muqueuse et la sous muqueuse, comme dans le rumen et le réseau, sont confondues à la suite de l'absence de la musculaire muqueuse.

La couche musculaire est très développée et émet des relèvements musculaires qui parcourent chacun des plis sur toute sa hauteur.

### 4. Caillette (Estomac proprement dite) (Jergens et al., 2011)

La caillette est la partie glandulaire de l'estomac des ruminants. L'histologie de ceci est semblable à l'estomac glandulaires.

La muqueuse (gastrique) présente de nombreux replis, ou sillons inter lobulaires, qui s'aplatit avec la distension de l'estomac lors de l'arrivée du bol alimentaire.

L'épithélium, cylindrique et simple, est constitué de cellules mucipares à pôle muqueux fermé. Celles-ci sont polyédriques, de grande taille, au cytoplasme acidophile, et possède un noyau ovoïde basal.

Elles ont un renouvellement très rapide en 3-4 jours, grâce à l'activité mitotique du fond des cryptes.

L'épithélium s'invagine dans la lamina propria pour former les cryptes gastriques. Les glandes sont localisées dans la lamina propria, et s'abouchent au fond des cryptes via un

rétrécissement du canal glandulaire appelé collet, par lequel elles déversent leurs sécrétions (**Kwan, 2010**).

La musculaire-muqueuse est relativement épaisse, composée de trois couches successives de fibres musculaires lisses regroupées en amas, et s'étend jusque dans la lamina propria et entre les glandes gastriques. On distingue trois zones dont l'organisation de l'épithélium glandulaire diffère sensiblement : la zone cardiaque, la zone fundique et la zone pylorique (**Bernex, 2006**).

## II. Bactéries spiralées de tube digestif des bovins

Le développement des méthodes notamment de culture en atmosphère microaérobie a permis de prendre conscience de l'existence d'un grand groupe de bactéries colonisant les muqueuses de tractus digestif de l'homme et des animaux.

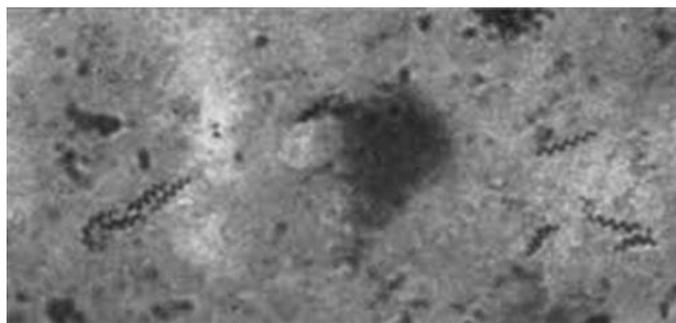
Les bactéries spiralées du tube digestif ont en commun les caractères suivants :

- **Morphologie** : forme spiralée ou incurvée (campylo : virgule en grec) à Gram-négatif
- **Métabolisme** : microaérobie et n'utilisant pas les sucres pour tirer leur énergie
- **Écologie** : adaptés à la vie dans le mucus.

### I.1. Helicobacter

Helicobacter est un genre de bacilles Gram négatif, mobiles par ciliature polaire. Elles ont un métabolisme aérobie et un type respiratoire micro-aérophile. Ce sont des bactéries chimio-organotrophes, oxydase et catalase positive (**GEFH, 2015**).

Le genre Helicobacter fait, comme les Campylobacters, partie des bactéries spiralées du tube digestif (**Figure 03**).



**Figure 03** : Forme spiralée des Helicobacter (Micrographie électronique)

Cette bactérie infecte la muqueuse gastrique (**Fauchère et al., 1991**).

Il existe de nombreuses espèces d'Helicobacter. Certaines sont gastriques, d'autres dites entéro-hépatiques.

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 1**.

**Tableau 1:** *Helicobacter* gastriques (Lehrous., 2003)

Taxon	Hôte naturel
<i>H. acinonychis</i>	Guépard
<i>H. bizzozeroni</i>	Chien
<b><i>Candidatus Helicobacter bovis</i></b>	<b>Bovins***</b>
<i>H. felis</i>	Chat, chien
<i>H. heilmannii</i> *	Homme, primates
<i>Candidatus Helicobacter suis</i>	Porcs
<i>H. mustelae</i>	Furet
<i>H. nemevstrinae</i>	Macaque
<i>H. pylori</i>	Homme
<i>H. salomonis</i>	Chien
<i>H. suncus</i> *	Musaraigne

\* Espèces non encore officiellement reconnue

\*\*\* espèces récemment découvertes dans la caillette des veaux et des adultes bovins

De nombreuses espèces de *Helicobacters* ont été isolés de l'estomac des animaux :

*Helicobacter mustelae* a été pour la première fois isolé par Fox et al. De l'estomac d'un furet présentant un ulcère gastrique, mais également à partir d'estomacs sans lésions ulcéreuses (Lehrous., 2003).

Bien que *H. mustelae* soit spécifique du furet, il représente un modèle animal d'infection naturelle par un *Helicobacter* gastrique très intéressant.

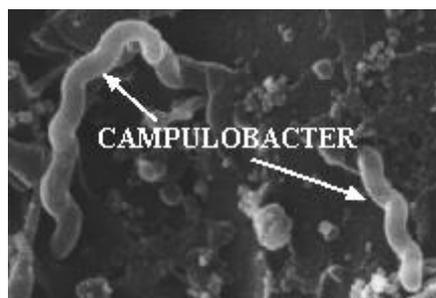
*Helicobacter felis* a été pour la première fois cultivé en 1988 par Lee et al. A partir de l'estomac du chat et du chien (GEFH,2015).cette espèce (*H. felis*) est la plus fréquemment rencontrée chez le chien et chat, en particulier domestiques.

*Helicobacter bizzozeronii* et *Helicobacter salomonis* ont été initialement cultivés à partir de biopsies gastriques de chien (Lehrous., 2003).

Récemment un nouvelle *Helicobacter pylori* a été proposé : *Candidatus Helicobacter bovis*, qui serait associé chez les bovins à des lésions ulcéreuses observées au niveau de la panse abdominale (Megraud, 2007).

### I.2. Campylobacter

Il s'agit de bactéries incurvées, spiralées ou en forme de S (Figure 04) de taille 0.2-0.9 µm d'épaisseur et 0.5 à 5 µm. Elles sont mobiles, avec un seul flagelle à une ou aux deux extrémités. Elles sont micro-aérophiles (elles poussent bien dans un environnement où l'atmosphère est constitué de 5% O<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub> et 85% N<sub>2</sub>), non saccharolytiques et positives à l'oxydase (Larrivière et Higgins, 1998).



**Figure 04** : Forme spiralée des Campylobacter (Micrographie électronique)

(Web 01, 2014)

Ce microorganisme est aussi sensible à la congélation, à la sécheresse, à des environnements acides (pH inférieur ou égal à 5.0) et à la salinité (Altekruse et al., 1999).

*Campylobacter jejuni* et les autres membres de son sous-groupe, ce sont des pathogènes thermophiles. Leur température optimale de croissance se situe donc entre 37°C et 42°C (Altekruse et al., 1999). Ce germe est présent dans le tube digestif d'une grande variété d'animaux sans généralement causer de signes cliniques. Les oiseaux en général et les volailles en particulier peuvent être considérés comme étant le réservoir naturel de *C.jejuni* ; il y vit au niveau du tube digestif. *C.coli* est l'espèce de Campylobacter exclusivement

rencontrée chez le porc, mais elle peut aussi être retrouvées chez d'autres animaux qui interviennent dans la chaîne épidémiologique, notamment les animaux (**Freney et al., 2007**).

De nombreuses espèces de *Campylobacter* sont présents dans les matières fécales des bovins de boucherie; en particulier, *Campylobacter lanienae* et *Campylobacter jejuni* sont fréquemment utilisés en grand nombre (**Inglis et al., 2005**).

Très peu d'informations sont disponibles sur le processus de colonisation des voies gastro-intestinales de bétail par les espèces de *Campylobacter*. Bien que *Campylobacter* ont été isolés à partir des intestins de veaux sains et les bovins adultes, ainsi que des veaux présentant des signes d'entérite (**Inglis et al., 2005**).

### **I.3. Autres bactéries**

#### *1. Vibriion*

Les vibrio sont des bacilles à gram négatif spiralées, très mobiles, aéro-anaérobie facultatifs, fermentant le glucose et possède l'oxydase. Ils se développent à 37°C et supportent un milieu alcalin pH (8.6-9). Ils sont largement répandus dans la nature, dans les eaux douces, dans les estuaires et dans les algues. Ils ont un tropisme digestif (**Megraud., 2011**).

#### *2. Arcobacter*

Bacilles incurvés en virgules à Gram négatif. Se regroupant en donnant des formes spiralées, mobiles en vol de moucheron.

Ce sont des bactéries spiralées du tube digestif à l'origine d'infections le plus souvent intestinales. Elles sont adaptées à la vie dans le mucus. Son métabolisme est microaérobie et n'utilisant pas le glucose pour leur énergie, oxydase<sup>+</sup> (**Megraud., 2011**).

Elles causent des entérites avec diarrhées chez les bovins, leur Transmission est certainement alimentaire (**CTCB avril 2004**).

### III. Techniques de diagnostic histologique

#### III.1. Préparation des prélèvements

Avant de passer à l'application de la technique histologique, on doit préparer et conditionner d'une façon convenable nos prélèvements.

##### 1. Prélèvements

Les prélèvements, quels qu'ils soient doivent être effectués avec le plus grand soin, car leur qualité conditionne directement les possibilités d'étude.

- Pour les tissus végétaux, le prélèvement utilise des méthodes particulières (écrasement, empreinte par vernis etc.)
- Pour des tissus animaux (et notamment humains), on distingue quatre catégories majeures de prélèvement :
  - **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 ;
  - **Les résections d'organes** en intégralité, suivies de leur étude (dans le cas d'une tumeur, déterminer le caractère bénin ou malin par exemple) ;
  - **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.

##### 2. Conservation (Gingras et al., 2010)

Afin de conserver l'échantillon dans un état le plus proche possible de l'état *in vivo*, deux moyens de conservation peuvent être utilisés :

- La congélation à  $-30^{\circ}\text{C}$ . , utilisée pour les prélèvements en salle d'opération dont le diagnostic doit être connu rapidement (examen extemporané);
- La fixation par un produit chimique comme le formol ou le liquide de Bouin), qui a pour effet de polymériser les protéines et, dans certains cas, les lipides présents dans l'organe.

Cette technique est utilisée pour les coupes histologiques "longues durées" après inclusion en paraffine.

### **3. Coloration**

Les tissus biologiques présentent en eux-mêmes très peu de contraste, aussi bien en microscopie optique qu'en microscopie électronique. La coloration est utilisée aussi bien pour augmenter le contraste que pour mettre en valeur l'une ou l'autre structure en particulier.

Les techniques de coloration ont été découvertes de façon fortuite. Dans un certain nombre de cas, le lien spécifique entre la coloration et la nature du tissu n'est toujours pas connu actuellement .

### **III.2. Techniques de détection in situ**

Il existe de nombreuses techniques histologiques.

#### **1. Histochimie (André et al., 2008)**

On parle d'histochimie quand la coloration se fonde sur des réactions chimiques connues entre des réactifs de laboratoire et des composants des tissus étudiés.

Les techniques histochimiques sont basées sur des réactions biochimiques qui permettent de mettre en évidence in situ, dans les cellules ou dans les tissus, différents constituants.

Par exemple lors d'une coloration à l'hématoxiline-éosine, l'éosine qui est un acide se fixe préférentiellement aux molécules basiques et permet donc de colorer le cytoplasme cellulaire (végétal ou animal), alors que l'hématoxiline, qui est une base, colore les noyaux cellulaires en se fixant préférentiellement aux acides nucléiques.

La coloration par le Periodic Acid-Shiff (PAS) permet de colorer de nombreux glucides par rupture des ponts Carbone-Carbone des 1,2-glycols par l'acide périodique qui est un agent oxydant. La rupture de ces ponts produit des dialdéhydes qui réagissent avec le réactif de Shiff (fuchsine, acide sulfurique) pour donner un composé magenta vif.

### **2. Histochimie enzymatique (Anonyme 02, 2015)**

La distribution tissulaire de certaines enzymes spécifiques peut être étudiée sur des coupes fraîches en y ajoutant un substrat spécifique de cet enzyme. L'enzyme réagit alors avec ce substrat pour former un produit de réaction primaire, insoluble et pouvant être mis en évidence par une coloration appliquée d'emblée ou dans un second temps.

La plupart des systèmes enzymatiques étant détruits lors de la fixation, les méthodes d'histochimie enzymatique sont le plus souvent réalisées sur coupes en congélation. Ces techniques permettent de détecter un grand nombre d'enzymes s'exprimant de façon pathologique dans certains tissus.

### **3. Historadiographie (Jean-Michel André et al., 2008)**

Les échantillons de tissus peuvent être colorés par des techniques radiographiques. Les deux usages les plus courants sont le marquage des cellules en phase S de la mitose par incorporation lors de la réplication de l'ADN de thymidine tritiée et l'hybridation in-situ. Le marquage peut être révélé par visualisation sur microscope à fond noir des grains d'argent formés par réaction du rayonnement radioactif sur une plaque photographique. Cette technique tend à être remplacée par l'immunohistochimie.

- **Immunohistochimie (André et al., 2008)**

Des anticorps spécifiques sont utilisés pour venir se fixer à une molécule de la coupe histologique. Ces anticorps polyclonaux, produits chez l'animal à partir de la protéine purifiée, seront porteurs d'un marqueur, le plus souvent fluorescent. On parle alors d'immunofluorescence. Cette technique tend à faire disparaître l'historadiographie. Les échantillons sont alors examinés sous microscope à fluorescence.

# **Partie expérimentale**

### Objectif

Afin d'apporter une nouvelle appréciation d'analyse qui contribuera probablement à donner une nouvelle vision de l'histologie dans le domaine de la bactériologie animale, nous avons réalisé ce travail qui a pour objectif la recherche de bactéries spiralées (*Helicobacter* en particulier) au sein de tube digestif des bovins par l'utilisation de technique d'Histopathologie.

### I. Matériels et méthodes

#### 1. Type et période d'étude

Il s'agit d'une étude descriptive réalisée au sein du laboratoire d'anatomo-pathologie du laboratoire d'ana-pathologie et d'histologie et de cytologie du CHU Neffissa Hamoud (Ex. Parnet).

Les prélèvements ont été réalisés au niveau de deux abattoirs de la Wilaya de Bouira :

- Abattoir du Ain Bessam.
- Abattoir du Lakhdaria.

#### 2. Nombre de prélèvements

Durant une période de deux mois ,nous avons effectué un total de 60 prélèvements (fragments de muqueuse) sur des bovins présentant ou non des lésions au sein de l'appareil digestif directement après l'abattage au niveau des deux abattoirs de Bouira cités auparavant.



**Figure 05 :** Aspect non lésionnel de la caillette

**figure06 :** Aspect lésionnel de la caillette

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

### 3. Matériels utilisés

#### a. Matériels biologiques

- les biopsies gastriques (fragments de muqueuses)
- Les solutions
  - Le **fixateur (Formol)**
  - **L'éthanol**



**figure 07 : biopsie dans fixateur**

Nous avons utilisé de l'éthanol à concentrations croissantes, pour la déshydratation, et de l'éthanol à concentration décroissante pour l'hydratation.

- **Le xylène**

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 uns 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.

#### b. 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.

#### c. Appareillages

- Congélateur a -30°C.
- Microtome.

- Étuve.
- Appareil de déparaffinage et de coloration.
- Microscope optique

<p><b>Figure08 ;</b> Appareil de circulation</p>	<p><b>Figure 09 :</b> Appareil d'enrobage</p>
	
	
<p><b>Figure 10 :</b>Microtome</p>	<p><b>Figure11 :</b> Bain marie</p>
	
<p><b>figure12 :</b> Plaque congelée</p>	<p><b>Figure13 :</b> Étuve</p>
	
<p><b>Figure 14 :</b> Appareil de déparaffinage</p>	<p><b>Figure15 :</b> Appareil de montage et</p>
	
<p><b>Figure16:</b> Microscope optique</p>	<p><b>figure 17 :</b> Incubateur</p>

II.

### 4 .Méthodes

#### a. Réalisation des biopsies (Fragments de muqueuse)

Suite à l'abattage des bovins nous avons réalisé des prélèvements des fragments de muqueuses digestives (biopsies).

Les biopsies de la muqueuse digestive sont faites avec des pinces et des bistouris à usage unique.

Le prélèvement biopsiques doit être précisément ciblé.

Il doit être effectué de façon perpendiculaire à la muqueuse prélevée.

Les prélèvements doivent être immédiatement placés dans un récipient contenant un fixateur (fourni par le laboratoire d'anapathologie). De préférence, le formol dilué ou le liquide de Bouin.

#### b. Application de test rapide d'urée

Un test rapide à l'uréase modifié a été utilisé sur les petits fragments de muqueuse coupés avec des ciseaux, broyés manuellement et placés dans des tubes à essai avec deux gouttes d'une solution physiologique (eau distillée) pour tous les temps de collecte dans l'abattoir.

Les tubes ont été amenés au laboratoire, la solution a été éliminé et 1 ml du réactif a été ajouté à chaque échantillon (10% d'urée dans de l'eau distillée non tamponnée, pH 6.8, auquel on a ajouté 1% de phénol, une suspension de couleur rouge).

Les résultats ont été enregistrés à 30 min et 60 min après chaque application. Un changement de couleur du jaune pâle au rose vif a été considéré comme une réaction positive (**Figure 18**).



**Figure 18** : Réaction d'urée négative (à gauche) et positive (à droite)

### c. Techniques Anatomo-histologiques

#### c.1 Partie macroscopique

- Nous avons déposé nos biopsies gastriques dans l'éosine pendant quelques minutes.
- Avec l'utilisation d'une pince, nous avons pris les fragments un par un, tout en les entourant avec un papier très fin.
- Ensuite, nous avons inclus ces fragments dans des cassettes à laquelle nous avons déjà attribué un numéro.
- Enfin, nous avons placé les fragments dans un bain de formol pendant 24h.

#### • Imprégnation

Nous avons imprégné les fragments dans des cassettes fixées dans trois bacs différents utilisant le processus suivant:

1. passage dans cinq bacs d'alcool décroissant.
2. passage dans quatre bacs de xylène.
3. passage dans trois bacs de la paraffine chaude.



Note : le passage dure 2h dans chaque bac.

**figure 19** : les étapes d'imprégnation

#### • Inclusion

L'imprégnation est suivie par l'inclusion des cassettes déjà préparées qui consiste à l'enrobage de la pièce présentée dans un moule. Ce dernier est recouvert avec de la paraffine liquide rigidifiée permettant ainsi la conservation des rapports architecturaux des structures les unes par rapport aux autres et de lui donner un support externe à la fois pendant et après la coupe.

#### • Les coupes

Pour la préparation des coupes histologique, nous avons appliqué la procédure suivante :

- Dépôt des blocs sur une plaque refroidissante.
- Avec un couteau, l'excédent de la paraffine tout autour de la cassette a été éliminé.
- Insertion des blocs entre les mâchoires du porte-objet du microtome.

- Application de deux mouvements l'un verticale (par la grande roue), l'autre est horizontal (par la petite roue) qui détermine l'épaisseur de coupe, en retirant notre ruban de paraffine afin d'éviter des grands repliements de ce dernier.
- Récupération de ruban, qui sera étalé directement et délicatement à la surface d'un bain-marie thermostaté à 40°C.
- Le dépôt des lames préparées sont numérotées en utilisant un crayon de diamant.



**figure20:** réalisation des coupes

- **Séchage des lames**

Le séchage des lames est effectué par l'évaporation des boules d'eau qui persiste entre la coupe et la lame le long du processus qui est réalisée dans une étuve à 60 ° C durant 15 mn.

- **Déparaffinage et coloration**

Le déparaffinage et la coloration ont été appliqués dans le même automate en deux étapes pour une bonne reproductibilité, la première étape avant la coloration sert à éliminer la paraffine du tissu pour que les colorants puissent le pénétrer et cela à l'aide du solvant d'xylène, puis une réhydratation qui consiste à substituer progressivement le xylène du tissu par des bains d'éthanol décroissants afin de le retirer et de le remplacer par de l'eau.



**Figure21 :** coloration et déparaffinage

### 1. Coloration HE

Comme expliqué dans la partie bibliographique, cette coloration sert à imprégner le noyau en bleu noir (Hématoxyline) et le cytoplasme et la matrice extracellulaire en rose (Éosine).

Ceci facilite l'interprétation de la pathologie, l'identification du tissu et l'étude de la composition tissulaire.

### 2. Coloration Giemsa

Pour cette coloration, nous avons déposé les lames dans un chariot en verre rempli du colorant Giemsa (un fort bleu) durant 10 à 15 min.

Les lames sont récupérées puis rincées sous l'eau de robinet.

Enfin, les plateaux en bois sont séchées pour procéder à leur montage.

- **Montage**

Cette opération consiste à fixer à l'aide d'une colle une lamelle couvre-objet sur la coupe afin de protéger de la dégradation chimique des colorants et des bris mécaniques.

-Après que les lames (coloration HE et Giemsa) sont séchées, passer à la réalisation du montage lame par lame.

- Faire passer la lame dans le bac xylène.
- Préparer une lamelle avec de la colle et la poser au-dessus de la lame en l'insérant avec les doigts tout en faisant attention à la position des tissus.
- Utiliser le gaz pour essuyer les lames et les laisser sécher dans les plateaux du bois.
- En dernier lieu, numéroter les lames avec un marqueur au crayon de diamant en gardant le même numéro d'attribution.

### c.2. 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 (Annexe 03)***

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 (Annexe II)***

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

### III. Résultats et discussion

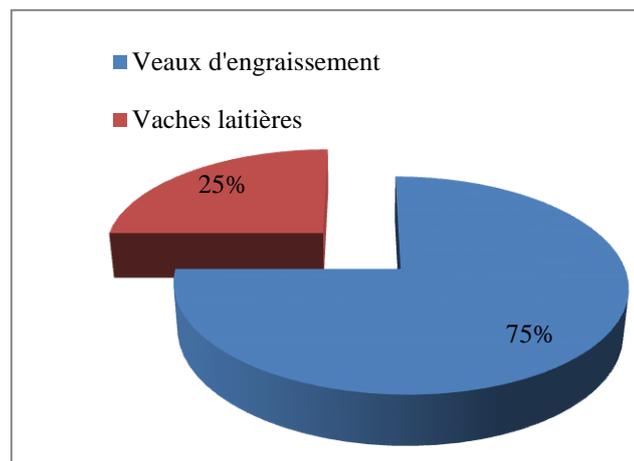
Avant d'entamer la partie résultats et discussion, il est nécessaire de savoir que tous les travaux concernant la recherche de bactéries spiralées sur coupes histologiques chez les animaux, se sont déroulés dans les pays industrialisés.

Nous n'avons retrouvé aucune étude menée sur ce thème en Algérie et dans les autres pays en voie de développement.

#### II.1. Données concernant l'Animal

##### 1. Répartition des bovins selon le sexe

Une prédominance des mâles a été notée avec une fréquence de 75%, qui correspond à 45 sujets sur les 60 bovins sélectionnés durant notre expérimentation. Les 15 sujets restants sont des femelles et représentent une fréquence de 25% (15/60) (**Figure 23**).



**Figure 23: Répartition des animaux selon le sexe**

##### 2. Répartition des bovins selon l'âge et la race

Les 45 veaux avaient un âge qui varie de 14 à 26 mois. Alors que toutes les vaches laitières sélectionnées au cours de notre étude dépassaient les 6 ans d'âge.

Sur les 45 veaux, 88.89% (40/45) font partie de la race importée (15 Montbéliarde, 15 Charolais, 10 Normande) et 05 races locales.

Les vaches laitières sont réparties comme suit : 07 Montbéliarde, 05 de la race locale et 03 de la race Holstein (**Tableau 02**)

**Tableau 02:** Répartition des sujets selon la race

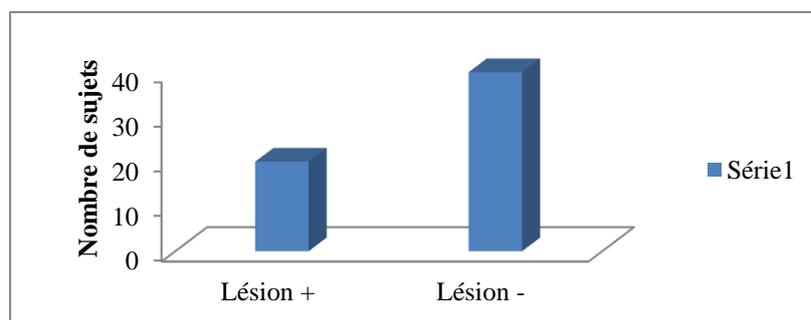
	Veaux d'engraissement n(%)	Vaches laitières n(%)
<b>Montbéliarde</b>	15	07
<b>Charolais</b>	15	/
<b>Normande</b>	10	/
<b>Holstein</b>	/	03
<b>Race locale</b>	05	05

Selon plusieurs études menées par des chercheurs Européens, la présence de lésions ainsi que le changement de la flore bactérienne qui colonisent la muqueuse digestive peuvent être influencés par l'âge, le sexe et la race des bovins

En Belgique, dans une étude faite chez les animaux (les bovins en particulier), Haesebrouck et al ont noté une corrélation positive entre l'apparition de lésions digestives, la présence de bactéries spiralées et l'âge (**Haesebrouck et al, 2009**).

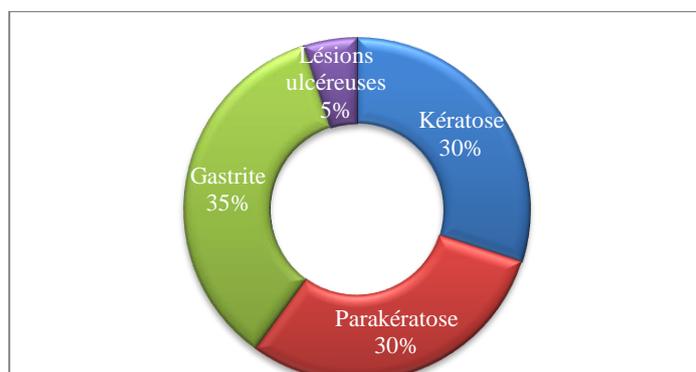
### 3. Étude macroscopique

- Sur les 60 sujets étudiés, 33.3% (20/60) seulement ont présenté un aspect lésionnel au niveau gastrique. Parmi ces 20 sujets, 09 femelles et 11 males (**Figure 24**)



**Figure 24 :** Répartition des sujets selon la présence ou non de lésions macroscopiques

- La **Figure 25** ainsi que le **Tableau 03** représentent les différents types de lésions rencontrées au cours de notre expérimentation.



**Figure 25:** Nature des lésions observées

**Tableau 03:** Fréquence de lésions gastriques rencontrées

Lésions gastriques	Nombre de cas (%)
Kératose	6 (30%)
Para kératose	6 (30%)
Gastrite	7 (35%)
Lésions ulcéreuses	1 (5%)
<b>Total</b>	20 (100%)

La présence de lésions peut augmenter la chance de trouver des traces de bactéries spiralées au sein de coupes histologiques.

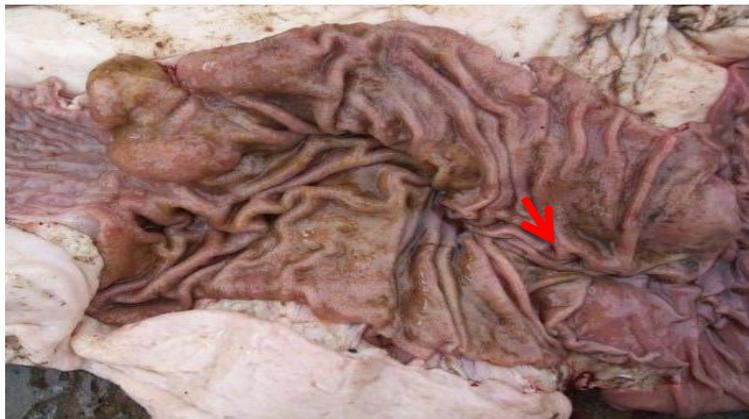
Les lésions de la muqueuse gastriques sont souvent provoquées par des facteurs externes: principalement aux Infections bactériennes comme par *Helicobacter pylori* (**Santé Web, 2011**).

Selon Jean-Louis Fauchère, La présence de *Helicobacter pylori* sur la muqueuse gastrique est corrélée à l'existence d'un état inflammatoire pouvant, soit être asymptomatique, soit se manifester par une gastrite antrale de type B ou un ulcère peptique gastro-duodéal et les bactéries désigné au nom de " Gastric Campylobacter Like Organisms (GCLO) qui sont retrouvés dans l'estomac au cours des gastrites et des ulcères peptiques (**Jean-Louis Fauchère, 1991**).

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



**Figure 26 (Photo prise à l'abattoir) : kératose**



**Figure 28 (Photo prise à l'abattoir) : Inflammation/ Caillette**



**Figure 29 : (Photo prise à l'abattoir) : Inflammation du rumen+ ulcération**

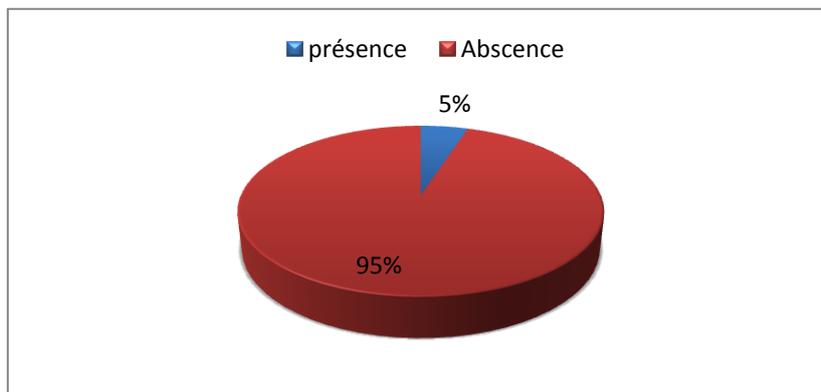


**Figure30** :( Photo prise à l'abattoir) : Réticulite

#### 4. Résultats histologiques

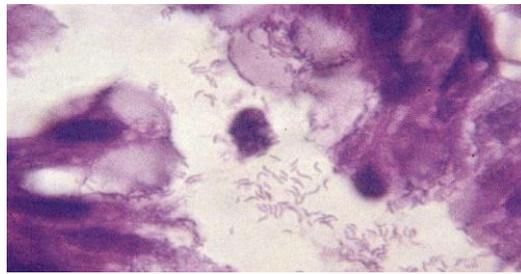
Nous avons noté la présence de bactéries de formes spiralées dans 03 coupes histologiques sur les 60 coupes analysées.

**Figure31** : Fréquence de détection de bactéries spiralée

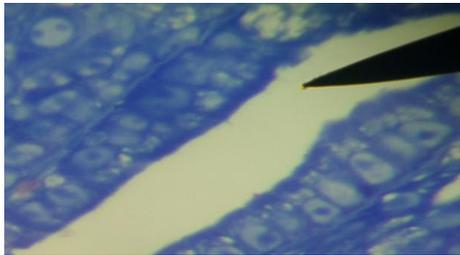


Noter que, les 03 coupes positives sont issues de vaches laitières.

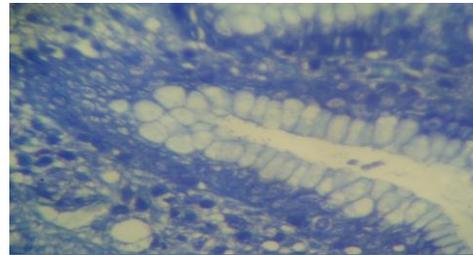
Absence de formes spiralées au sein des coupes histologiques issues des prélèvements de veaux d'engraissement et des autres vaches laitières analysées.



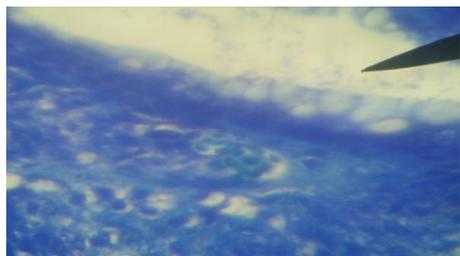
**Figure 32 : Helicobacter spp. en coloration Giemsa (Témoin positive)**  
(Web 02. 2015)



**Figure 33 : Bactéries spiralées- en coloration**  
Giemsa  
Gr. 40



**Figure 34 : Bactéries spiralées+ en**  
coloration Giemsa Gr. 40



**Figure 35 : Bactéries spiralées+ en**  
coloration Giemsa Gr. 40



**Figure 36 : Bactéries spiralées+ en coloration**  
Giemsa Gr. 40

### 5. Test d'Urée

Plus de la moitié (35/60) des fragments de muqueuses digestives analysés ont présenté une activité positive à l'Uréase, ce qui correspond à une fréquence de 58.3%.

Nous n'avons trouvé aucun rapport publié qui peut expliquer ce taux important de positivité observée au cours de notre expérimentation.

Certains chercheurs ont trouvé des taux similaires aux nôtre, comme Braun et al. qui ont signalé une activité uréase positive relativement élevée dans le pylore des bovins (56,3%) (**Braun et al., 1997**).

Nos résultats restent inférieurs par rapport à ceux de Kolodzieyski et al qui ont trouvé un taux de positivité 70,6% (**Kolodzieyski et al., 2008**).

Ces auteurs ont également observé des microorganismes suspects appartenant au genre *Helicobacter* en utilisant la microscopie optique ainsi que des techniques histopathologiques. De même, certains auteurs ont observé des organismes de *Campylobacter*-like, principalement dans la région du pylore (**Gunther et Schulze, 1992**).

### 6. Corrélation entre les paramètres étudiés

Les 03 fragments de muqueuses digestives qui ont révélé un résultat positif suite à l'application de technique histologique sont issues de vaches laitières qui présentent un aspect lésionnel au sein de la partie prélevée de tube digestif.

Parmi la liste des bactéries spiralées qui colonise la muqueuse digestive, il y a que *Helicobacter pylori* qui est Uréase+ (**Kolodzieyski et al. 2008**).

La responsabilité de *Helicobacter pylori* est à présent bien établie dans la genèse et l'entretien de lésions digestives, principalement au niveau gastrique (**GEFH, 2015**).

### Conclusion

Les bactéries spiralées, principalement du genre *Helicobacter* sont actuellement la cause majeure de maladies d'origines digestive dans le monde et représente donc un sérieux problème de santé publique. L'homme se contamine généralement directement par le contact direct avec les hôtes infectés ou les réservoirs ou indirectement par consommation des aliments d'origine animale (volaille, porc, bœuf, agneau, fruits de mer) contaminée.

Au terme de notre étude, ayant fait l'objet d'apporter une nouvelle appréciation d'analyse qui contribuera à donner une nouvelle vision de l'histologie dans le domaine de la bactériologie animale.

Nous avons prouvé l'existence de ces bactéries spiralées dans le tube digestif des bovins : Avec une seule technique de diagnostic, un taux de 5% a été noté.

Malgré que ce taux soit faible statistiquement, il reste indicateur d'un probable danger pour l'homme.

Bien que les résultats présentés ici ne puissent être considérés comme ceux d'une véritable enquête épidémiologique, ce travail reste un pas pour des études futures afin d'élucider le rôle des bovins dans la transmission des bactéries spiralés d'origine digestive.

Cette enquête mérite d'être approfondie est complétée par une étude plus exhaustive pluridisciplinaire, qui devrait cibler un nombre d'échantillon plus important avec l'utilisation de plusieurs techniques d'identification de ces bactéries.

## Références bibliographiques

1. **Altekruse SF, Stern NJ, Fields PI, Swerdlow, DL**, Campylobacter jejuni--an emerging foodborne pathogen. Emerg Infect Dis.5(1):28-35, 1999.
2. **Anonyme 01**, anatomie physiologie du système digestif,2015.
3. **Anonyme 02**, Matériel et méthodes de l'histologie médicale,2015.
4. **Bacha W. J. et Bacha L. M.** Color Atlas of Veterinary Histology, Third edition. s.l. : Wiley Blackwell, 2012.
5. **Bernex F.** Histologie de l'appareil digestif. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort : s.n., 2006.
6. **Braun U., Anliker H., Corboz L., Ossent P** : The occurrence of spiral-shaped bacteria in the abomasums of cattle (in German). Schweizer Archiv fur Tierheilkunde, 139, 507–516, 1997.
7. Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique, avril 2004
8. **Dr. Paul WL Kwan**,2010. Digestif II :Œsophage et l' estomac, École de médecine de l' Université Tufts.
9. **Elsevier Mosby**., Endoscopic Biopsy Specimen Collection and Histopathologic Considerations. s.l., 293-309. 2011
10. **G. Douglas Inglis , Lisa D. Kalischuk , Hilma W. Busz et John P. Kastelic**., 2005. Colonisation de bovins Intestines parCampylobacter jejuni et Campylobacter lanienae. DOI: 10.1128 / AEM.71.9.5145-5153.
11. **Groupe d'étude français d'Helicobacter GEFH**, 2015. Helicobacter : Bactériologie.
12. **Gunther H., Schulze F**; (1992): Histological studies of the occurrence of organisms shaped like Campylobacter in the abomasums of calves (in German). Journal of Veterinary Medicine. Series B, 39, 737–745.
13. **J. Freney , François RENAUD, Roland Leclercq, Philippe Riegel** , Précis de bactériologie clinique, ESKA / LACASSAGNE paru le : 08/2007 ; 2ème édition,2007.
14. **Jean-Louis Fauchère Agnès Rosenau** ,Campylobacter et Helicobacter en pathologie digestive humaine. médecine/sciences 1 991 ; 7: 138-52
15. **Jean-Michel André, Martin Catala, Jean-Jacques Morère, Estelle Escudier, Georges Katsanis, Jacques Poirier.** Histologie : les tissus Niveau PAES. Université Pierre et Marie Curie. 2007 – 2008.

16. **Jergens AE, Willard MD et Day MJ.** Small Animal Endoscopy, third edition, Chapter 8,
17. **Kühnel,** Atlas d'histologie humaine et animale, 1997
18. **L. Kolodzieyski, B. Kim, H. Park, H.S. Yoon, C.W. Lim,** 2008. Prevalence of gastrospirillum-like organisms in pigs, cattle, and dogs: a comparison of diagnostic methods between species. Veterinarni Medicina, 53, 2008.
19. **Megraud,** chapitre I, Revue de la littérature : LES DIFFERENTES FORMES DE LA BACTERIE ,2007
20. **P.Lehrous.,** Helicobacter et les autres. Gastroenterology Clin Biol , 27 : 367-6373, 2003.
21. **Professeur Michel Simonet,** Histologie de tube digestif, InVS ;, année universitaire 2013-2014
22. **SECK M.T. , MARCHAND B., BA C.T..** Étude histopathologique du rumen de bovins infestés par *Carmyerius marchandi* (Gastrothylacidae) et par *Paramphistomum microbothrium* (Paramphistomidae), dans la région sud du Sénégal. Ann. Méd. Vét., 151, 200-206, 2007
23. **Stephen J. Danon et Adrian Lee,** Helicobacter pylori: Physiologie et génétique. Chapitre 44 Autres gastrique Helicobacters et organismes Spiral, 2001.
24. **Suzanne gingras lynda godue, T.M.** Transport et conservation des échantillons dans le domaine de la biologie médicale. DANS LE DOMAINE DE LA BIOLOGIE MÉDICALE - RÈGLES DE PRATIQUE - Quatrième édition.
25. **Svec, A., P. Kordas, Z. Pavlis, and J. Novotny.;** High prevalence of *Helicobacter heilmannii*-associated gastritis in a small, predominantly rural area: further evidence in support of a zoonosis? Scand. J. Gastroenterol. 35 : 925-928 , 2000.

### Sites web

1. (Web 1,2014)[http://www.gch.ulaval.ca/agarnier/bcm20329/hur\\_c03.htm](http://www.gch.ulaval.ca/agarnier/bcm20329/hur_c03.htm)
2. <http://www.helicobacter.fr/index.php/diagnostic-tests-invasifs/bacteriologie>
3. **Santé Web,** 2011 :  
[http://www.santeweb.ch/santeweb/Maladies/khb.php?Inflammation de l estomac gastrite ai gu&khb\\_lng\\_id=2&khb\\_content\\_id=7218](http://www.santeweb.ch/santeweb/Maladies/khb.php?Inflammation_de_l_estomac_gastrite_aigu&khb_lng_id=2&khb_content_id=7218)
4. **Site Web,** <http://fr.slideshare.net/Assomaropathologie/amp-gastrites-casablanca-2011>



# annexes

**Fiche de  
renseignement**

**Fiche de renseignement d'Animal**

**Espèce animale**

Chien	<input type="checkbox"/>
Chat	<input type="checkbox"/>
Ovins	<input type="checkbox"/>
Bovins	<input type="checkbox"/>
Poulet de chair	<input type="checkbox"/>

**Aspect clinique**

Cliniquement sain	<input type="checkbox"/>
Cliniquement malade	<input type="checkbox"/>
Présence de lésions gastriques	<input type="checkbox"/>
Présence de diarrhée	<input type="checkbox"/>

**Signalement**

Race	<input type="checkbox"/>
Sexe	<input type="checkbox"/>
Age	<input type="checkbox"/>
Poids	<input type="checkbox"/>
Origine	<input type="checkbox"/>

**Présence de lésions gastriques**

	Léger	Modéré	Sévère
Inflammation	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Atrophie	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hémorragie	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**Fiche de suivi de Prélèvement**

N° de prélèvement	<input type="checkbox"/>
Heure de début de prélèvement	<input type="checkbox"/>
Heure de fin de prélèvement	<input type="checkbox"/>
Heure d'Arrivé au laboratoire	<input type="checkbox"/>
Température de jour	<input type="checkbox"/>

**Nature de prélèvements**

Sanguins	<input type="checkbox"/>
Biopsie gastrique	<input type="checkbox"/>
Ecouvillonnage rectal	<input type="checkbox"/>

**Etablissement**

Elevage	<input type="checkbox"/>
Abattoir	<input type="checkbox"/>
Fourrière	<input type="checkbox"/>

Nom de propriétaire

Adresse d'établissement

<input type="text"/>
<input type="text"/>

### **Fiche technique de Coloration au Giemsa (OMS, 1994)**

**Indications** : Le Giemsa est en général utilisé dans la pratique pour la coloration des GE des FM fixés préalablement en vue d'examens parasitologiques et de cytohématologie.

**Matériel** : Lames à colorer, Giemsa-R (solution mère), eau tamponnée, éprouvette, pipettes compte-gouttes.

### **Mode opératoire** :

§ Recouvrir les lames à colorer de Giemsa (*solution de travail*) diluée extemporanément

§ Laisser agir pendant **15 à 20 à minutes**

§ Rincer **délicatement** à l'eau du robinet, égoutter et sécher à l'abri des poussières.

§ Dans le cas de frottis pour recherche de *plasmodium*, les noyaux leucocytaires sont violet foncé, la chromatine du plasmodium est rouge foncé et son cytoplasme bleu pâle.

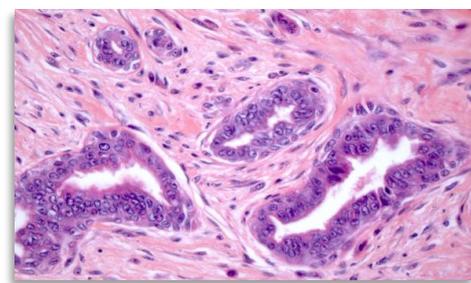
### **Ø Préparation de Giemsa (solution de travail)**

Selon qu'on ait à faire au Giemsa Rapide ou au Giemsa Lent, la solution mère sera diluée au 1/10<sup>e</sup> ou au 1/20<sup>e</sup> de **préférence dans de l'eau tamponnée** (pH 7 - 7,2). Bien mélanger. A utiliser dans la même journée. En pratique, pour une dilution au 1/10, prendra 2ml de Giemsa pour 18 ml d'eau tamponnée ; soit 20 ml de Giemsa prêt à l'emploi. Ce qui correspond à la coloration de 5 lames.

# HÉMALUN EOSINE®

Coloration histologique topographique qui, en différenciant le noyau du cytoplasme, donne une vue d'ensemble d'un tissu

1<sup>ère</sup> étape nécessaire et essentielle pour établir un diagnostic



Coloration Hémalum Eosine sur coupe tumeur du sein (G: X40)

## Principe

Cette coloration permet de visualiser la morphologie des cellules (noyau et cytoplasme) afin de déterminer leur répartition, architecture et structure. C'est la plus simple des colorations « combinées » qui s'effectue avec 2 colorants :

- ▶ un colorant nucléaire « basique » hématine (bleu)
- ▶ un colorant cytoplasmique « acide » type éosine, orange G... (rose orangé)

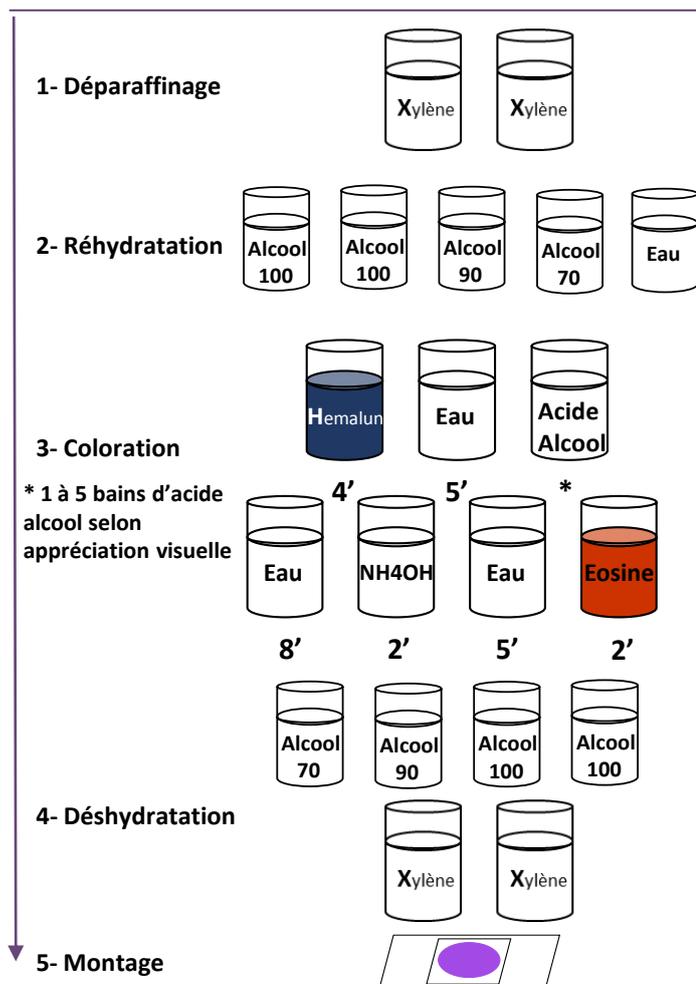
Cette technique fait agir successivement:

- ▶ la solution d'hématoxyline localise la chromatine nucléaire : c'est une coloration progressive \* (bleu violet)
- ▶ l'alcool-acide permet la différenciation rapide
- ▶ l'eau ammoniacquée bleuit les noyaux
- ▶ la solution d'éosine localise le cytoplasme : c'est une coloration régressive \*\* (rose à rose orangé)

\*Une coloration est dite « progressive » lorsqu'elle s'effectue par passage dans le colorant pendant un temps optimum.

\*\*Une coloration est dite « régressive » quand après sur-coloration on élimine l'excès par un différenciateur (alcool acide).

## Protocole standard



Ce schéma décrit un protocole standard, les réactifs et le temps de réaction peuvent varier selon le protocole utilisé

## Points de vigilance

### Avant la coloration

- ▶ Chirurgie : durée d'ischémie froide trop longue => dégradation de la morphologie des tissus
- ▶ Fixation : temps, volume, nature du fixateur inadaptés => dégradation de la morphologie des tissus
- ▶ Coupe : trop épaisse => superposition des cellules
- ▶ Etalement : attention aux plis

### Pendant la coloration

- ▶ Penser à ouvrir le robinet d'eau
- ▶ Changer ou filtrer régulièrement les colorants et les solvants (saturation rapide)
- ▶ Inclure des lames témoins dans chaque série
- ▶ Vérifier les conditions de conservation et les dates de péremptions des réactifs
- ▶ Préparer les réactifs à l'avance ou en extemporanée selon les protocoles recommandés
- ▶ Respecter les concentrations des solutions préconisées par le protocole du laboratoire
- ▶ Ajuster le pH
- ▶ Respecter les temps de coloration et de différenciation
- ▶ Utiliser une verrerie propre
- ▶ Vérifier la position des réactifs dans l'automate
- ▶ Vérifier quotidiennement la qualité de la 1<sup>ère</sup> coloration au microscope

1

Déshydratation

2

Inclusion

3

Coupe

4

Coloration

## Résumé

Les bactéries spiralées, principalement du genre *Helicobacter* sont actuellement la cause majeure de maladies d'origines digestive dans le monde et représente donc un sérieux problème de santé publique et animale.

Notre étude avait pour but de la recherche de bactéries spiralées (*Helicobacter* en particulier) au sein de tube digestif des bovins par l'utilisation de technique d'Histopathologie. Pour cela, 60 bovins (15 vaches laitières et 45 veaux d'engraissement) de race et d'âge différents ont fait l'objet de notre expérimentation qui s'est déroulée au sein laboratoire d'anatomo-pathologie du laboratoire d'anatomo-pathologie et d'histologie et de cytologie du CHU Neffissa Hamoud (Ex. Parnet).

Sur les 60 sujets étudiés, 33.3% (20/60) seulement ont présenté un aspect lésionnel au niveau gastrique. Parmi ces 20 sujets, 09 femelles et 11 males. Nous avons noté la présence de bactéries de formes spiralées dans 03 coupes histologiques sur les 60 coupes analysées. Plus de la moitié 58.3% (35/60) des fragments de muqueuses digestives analysés ont présenté une activité positive à l'Uréase.

Bien que les résultats présentés ici ne puissent être considérés comme ceux d'une véritable enquête épidémiologique, ce travail reste un pas pour des études futures afin d'élucider le rôle des bovins dans la transmission des bactéries spiralés d'origine digestive.

**Mots clés : bovins, coupe, digestif, histologie, helicobacter ,bacteries spiralées, lésions .**

## Abstract

The spiral bacteria, primarily *Helicobacter* genus are currently the major cause of diseases of digestive origins in the world and represents a serious public and animal health issue.

Our study aimed to research spiral bacteria (*Helicobacter* especially) in the digestive tract of cattle by the use of Histopathology technique. For this, 60 cattle (15 cows and 45 calves for fattening) of different race and age were the subject of our experiment that took place in laboratory pathology laboratory analy- pathology and histology and cytology CHU Neffissa Hamoud (Ex. Parnet).

Of the 60 subjects studied, 33.3% (20/60) only showed a lesion part in the stomach. Of these 20 subjects, 09 females and 11 males. We noted the presence of spiral shapes of bacteria in histological sections 03 of the 60 analyzed sections. More than half 58.3% (35/60) of the analyzed fragments of the digestive mucosa showed a positive activity to urease.

Although the results presented here can be regarded as those of a true epidemiological investigation, this work remains a step for future studies to elucidate the role of cattle in the transmission spiral bacteria of digestive origin.

**Key words: cattle, gut ;slide ,histology ,helicobacter, spiral bacteria**

## ملخص

تمثل البكتيريا الحلزونية خاصة هيليكوباكتر بيلور السبب الرئيسي للأمراض الجهاز الهضمي في العالم و تعتبر مشكلا كبيرا للصحة العمومية و الحيوانية

الهدف من دراستنا هو البحث عن البكتيريا الحلزونية(هيليكوباكتر بيلوري خاصة ) في الجهاز الهضمي للابقار و ذلك باستخدام تقنية التشريح .ولهذا تم اختيار 60 بقر (15 بقرة حلوبة 45عجل) بمختلف السن و العرق مصدر العينات المدروسة على مستوى مخبر علم التشريح للمستشفى الجامعي نفيسة حمود .33% من بين 60 موضوع مدروس تعاني من جروح على مستوى الجهاز الهضمي(9 بقرة و 11 عجل) .

قدلاحظنا وجود البكتيريا الحلزونية في 3شريحة من بين 60 ولاحظنا ايضا ان اكثر من نصف العينات تمثل نشاط ايجابي ليورياز.

بالرغم من هذه النتائج المقدمة لا يمكن اعتبار هذه الدراسة تحقيق فعلي .فلهذا يبقى عملنا هذا خطوة لالدراسات المستقبلية من اجل تفسير دور الابقار في انتقال البكتيريا الحلزونية للجهاز الهضمي .