

LA MUQUEUSE NASALE DU PORCELET : facteur de risque dans la rhinite atrophique

Béatrice MARTINEAU-DOIZÉ, Renée LAROCHELLE, G.P. MARTINEAU

Université de Montréal

Faculté de médecine vétérinaire - Groupe de Recherche sur les Maladies Infectieuses du Porc
(GREMIP) - CP 5000 - St-Hyacinthe - Québec - J2S 7C6 - Canada.

L'objectif de cette étude était de comparer la distribution des cellules caliciformes et des glandes sous-muqueuses des cavités nasales de porcelets de 1 à 28 jours d'âge. Les nez de porcelets SPF âgés de 1, 14 et 28 jours ont été enrobés à la paraffine. Des colorations histochimiques ont été appliquées sur des coupes sériées de 7µm d'épaisseur afin de mettre en évidence les mucosubstances neutres, acides carboxylées et acides sulfatées. Nous avons observé que le nombre de cellules caliciformes de la cavité nasale augmente dans le sens rostro-caudal. La plus forte densité de ces cellules a été observée au niveau de l'épithélium respiratoire du méat ventral et du septum. Cette distribution particulière des cellules caliciformes ne varie pas avec l'âge des porcelets. Par contre, la composition de leur sécrétion varie: ainsi, les sialomucines sont les plus abondantes dans les cavités nasales des porcelets de 1 et 14 jours tandis que les sulfomucines prédominent dans la moitié rostrale des cavités nasales des porcelets de 28 jours. L'affinité particulière de *Bordetella bronchiseptica* pour les glycoconjugués carboxylés et la prédominance des sialomucines dans les cavités nasales des porcelets de 1 à 2 semaines pourraient avoir un rôle dans la plus grande susceptibilité des porcelets nouveau-nés à l'infection par *B. bronchiseptica*.

The nasal mucosa of the piglet : risk factor for atrophic rhinitis

The aim of the present study was to compare the distribution of the goblet cells and the submucosal glands as well as the histochemical composition of their secretion products in the nasal cavity of piglets aged from 1 to 28 days. Serial transverse 7µm-thick paraffin embedded sections of the nose of SPF Landrace piglets of 1, 14 and 28 days of age were stained in order to demonstrate the presence of neutral, acidic sialylated and sulfated mucosubstances. A rostro-caudal increase in the number of goblet cells was observed, with the greatest density in the respiratory epithelium lining the ventral meatus and the septum. This goblet cell distribution did not vary with the age of the piglets. What did change according to age was the distribution of sialomucin and sulfomucin containing goblet cells. While sialomucins were most abundant in the nasal cavity of 1 day and 14 day old piglets, sulfomucins predominated in the rostral half of the nasal cavity of 28 day old piglets. The affinity of *Bordetella bronchiseptica* for sialyl glycoconjugates and the predominance of sialomucins in the nasal cavity of 1 to 2 week old piglets may account for their greater susceptibility to *B. bronchiseptica* infection.

INTRODUCTION

Les cavités nasales sont le premier endroit de contact entre l'animal et l'air inspiré. Leur muqueuse représente un élément-clé de la défense non spécifique des voies respiratoires (CHEVILLE, 1983; CURTIS, 1983). Occupant une grande proportion des cavités nasales du porcelet, la muqueuse respiratoire est composée d'une part de l'épithélium respiratoire, lequel contient principalement des cellules ciliées et des cellules caliciformes sécrétrices de mucus, et d'autre part des glandes de la sous-muqueuse, de type séro-muqueux, lesquelles produisent la majorité du mucus recouvrant les cavités nasales. La muqueuse de transition, située rostralement à la muqueuse respiratoire, contient également des cellules à mucus (LAROCHELLE et MARTINEAU-DOIZÉ, 1990).

Afin de pouvoir induire des lésions de rhinite atrophique, *Bordetella bronchiseptica* doit d'abord pénétrer la couche de mucus qui recouvre l'épithélium nasal puis ensuite s'attacher aux cils des cellules ciliées (YOKOMIZO et SHIMIZU, 1979; COLLINGS et RUTTER, 1985). Ce n'est qu'ensuite que *B. bronchiseptica* devient capable de se multiplier. Malgré l'importance évidente de la muqueuse nasale dans les mécanismes de défense contre les maladies respiratoires, très peu d'études ont été menées sur ses aspects morphologiques et physiologiques.

Le but de cette étude est d'évaluer quantitativement la distribution des cellules caliciformes dans les cavités nasales de porcelets âgés de 1 à 28 jours et de caractériser la composition histochimique de leur produit de sécrétion afin de déterminer si elles pourraient constituer un facteur de susceptibilité à l'infection par *B. bronchiseptica*.

1. MATÉRIEL ET MÉTHODE

1.1. Animaux et préparations histologiques

Six porcelets Landrace SPF âgés de 1, 14 et 28 jours ont été utilisés. Immédiatement après l'euthanasie, les cavités nasales ont été drainées avec une solution de formol à 10% contenant 2% d'acétate de calcium. Après décalcification dans une solution d'acide formique-citrate de soude, les nez ont été débités en tranches d'un centimètre d'épaisseur et enrobées à la paraffine. Des coupes sériées transversales et 7µm d'épaisseur ont été coupées et colorées à l'hématoxyline-phloxine-safranine (HPS) et hématoxyline-éosine (HE) pour l'observation morphologique. Des coupes adjacentes ont été colorées à l'acide periodique de Schiff (PAS) et au bleu alcian (pH 2,5)-acide periodique de Schiff (BA-PAS) pour la mise en évidence des mucosubstances acides (bleues) et neutres (rouges) (MOWRY et WINKLER, 1956). De plus, d'autres coupes adjacentes ont été colorées par la méthode aux diamines mélangées avec addition d'un oxydant suivie de la coloration au bleu alcian (HID-BA) (SPICER, 1965). Cette procédure permet de différencier les sialomucines (bleues) des sulfomucines (brunes).

Huit niveaux de coupes transversales ont été sélectionnés comme niveaux de référence (MARTINEAU-DOIZE et MARTINEAU, 1986; LAROCHELLE et MARTINEAU-DOIZE, 1990): deux niveaux rostraux à travers l'épithélium de transition, c'est à dire à hauteur de la première et de la deuxième dents incisives (I 1 et I 2), et six niveaux à travers l'épithélium respiratoire, c'est à dire à hauteur de l'espace entre la troisième

incisive et la canine (I 3-C), de la canine (C), de la première prémolaire (PM1), de l'extrémité rostrale (rPM2) et caudale (rPM2) de la deuxième prémolaire et de la troisième prémolaire (PM3).

1.2. Études quantitative et qualitative des cellules caliciformes

Les cellules caliciformes ont été comptées sur les coupes colorées au BA-PAS. Toutes les cellules contenant des glycoprotéines ont été considérées comme cellules caliciformes.

L'épithélium recouvrant la cavité nasale a été divisé en six régions: le méat dorsal, la paroi latérale du méat moyen, la volute dorsale du cornet ventral, le plancher de la cavité nasale, la partie ventrale du septum nasal et la volute ventrale du cornet ventral. Les cellules caliciformes ont été comptées dans chaque région sur une longueur d'épithélium de 2,5mm. Les mucosubstances ont été identifiées comme neutres, acides sulfatées (sulfomucines) ou acides carboxylées (sialomucines).

2. RÉSULTATS

2.1. Distribution des cellules caliciformes

La distribution des cellules caliciformes dans les cavités nasales n'est pas uniforme. L'épithélium de transition contient moins de cellules caliciformes que l'épithélium respiratoire. A hauteur de l'extrémité rostrale de la cavité nasale, la densité de cellules caliciformes est plus élevée au méat dorsal qu'aux autres méats, tandis que plus caudalement, leur densité est plus élevée au méat ventral et le long du septum (Figure 1).

Bien que le nombre de cellules caliciformes diminue de façon significative ($P < 0.01$) entre 1 et 28 jours dans l'épithélium aux niveaux I3-C à PM3, leur distribution relative ne varie pas.

2.2. Distribution des glandes de la sous-muqueuse

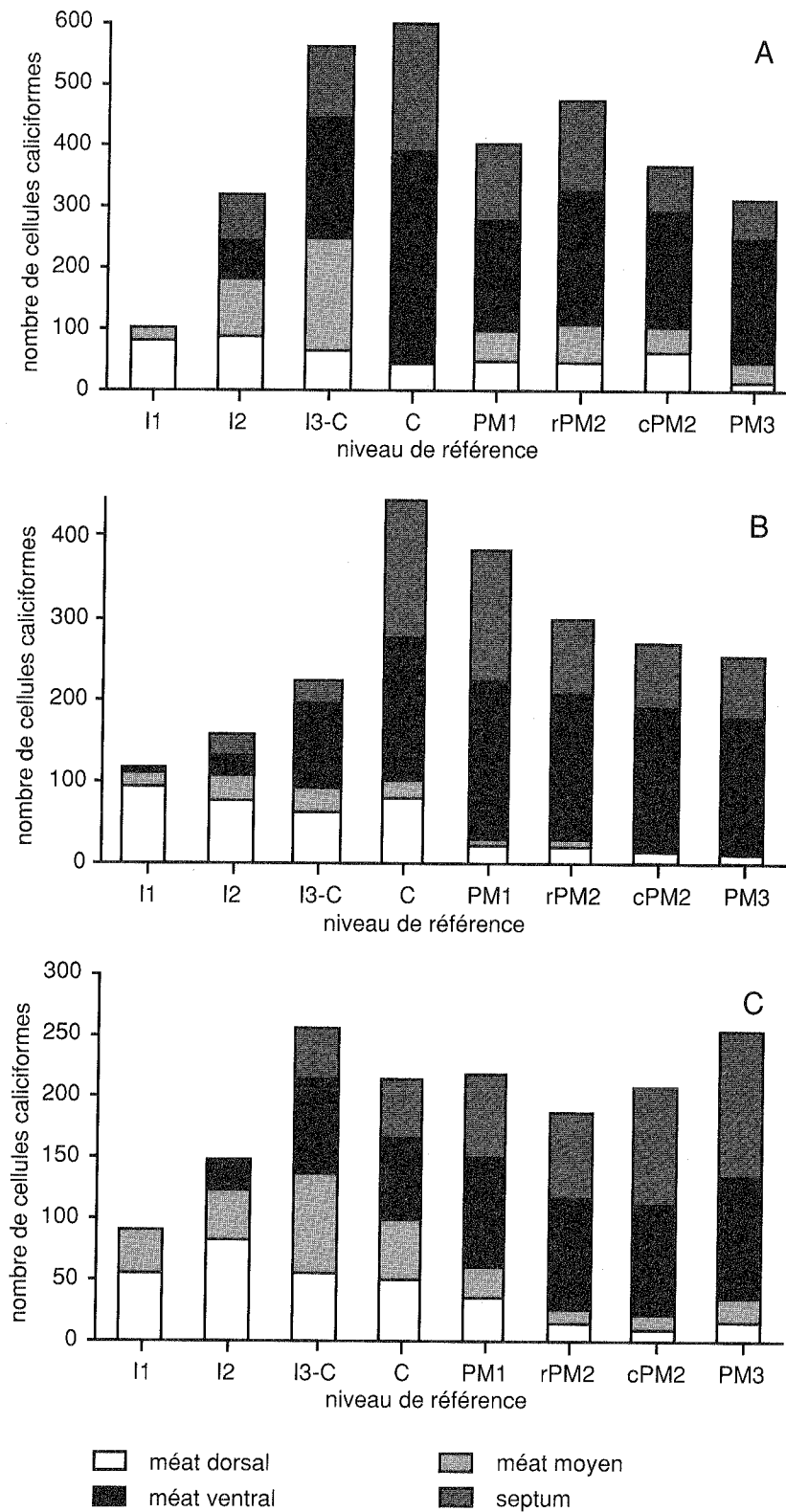
Les glandes de la sous-muqueuse sont acino-tubulaires et de type séro-muqueux, avec une prédominance d'acini séreux. Elles sont nombreuses au niveau du méat dorsal et du septum en regard de l'extrémité rostrale de la cavité nasale, sous l'épithélium de transition. Elles sont moins nombreuses à hauteur de l'épithélium respiratoire et leur distribution ne correspond pas à celles des cellules caliciformes.

2.3. Caractéristiques histochimiques des cellules caliciformes

La majorité des cellules caliciformes sont de couleur mauve au BA-PAS. Elles contiennent donc des mucosubstances acides positives au periodate. Au HID-BA, elles sont soit de couleur brune, indiquant la présence de mucosubstances acides sulfatées (sulfomucines), soit de couleur bleue turquoise, témoin de mucosubstances acides carboxylées (sialomucines), soit mixtes.

Chez les porcelets d'un jour, la moitié rostrale (aux niveaux I à C) des cavités nasales contient essentiellement des cellules caliciformes mixtes et des cellules contenant des sialomucines de PM1 à PM3. Dans la moitié ventrale des cavités nasales de ces porcelets, les cellules caliciformes contiennent surtout des sialomucines.

FIGURE 1
 NOMBRE MOYEN DE CELLULES CALICIFORMES (nombre de cellules/2,5mm)
 EN FONCTION DE LA RÉGION ET DU NIVEAU DE RÉFÉRENCE
 A: porcelets d'un jour ; B: porcelets de 14 jours ; C: porcelets de 28 jours



Entre 1 et 28 jours, le nombre de cellules contenant des sulfomucines augmente progressivement. Ainsi, à 28 jours, de I 1 à PM1, la cavité nasale ne contient que des cellules caliciformes à sulfomucines, les cellules contenant des sialomucines n'étant présentes que dans l'épithélium du septum caudalement au niveau PM1.

2.4. Caractéristiques histochimiques des glandes sous-muqueuses

Les sécrétions des acini séreux sont essentiellement neutres (rouges à la coloration BA-PAS), tandis que celles des acini muqueux réagissent au périodate et sont acides. L'HID-BA démontre que ces acini contiennent des sulfomucines (brunes), des sialomucines (bleu turquoise) ou qu'ils sont mixtes.

3. DISCUSSION

La distribution des cellules caliciformes dans les cavités nasales du porcelet semble en relation avec le trajet parcouru par l'air. En effet, dans la région rostrale (niveaux I1 et I2), recouverte par l'épithélium de transition, les cellules caliciformes sont peu nombreuses et localisées dans l'épithélium des méats dorsal et moyen. A partir du niveau I3-C, la densité augmente et les cellules se trouvent dans l'épithélium du méat ventral et du septum. Au cours de l'inspiration, les particules les plus grosses viennent buter avec force contre la paroi du méat dorsal de la région rostrale des cavités nasales (PROCTOR et CHANG, 1983) pour être ensuite drainées vers les narines (PROCTOR, 1982; PROCTOR et CHANG, 1983; MORGAN et al, 1984). Plus caudalement, du fait de l'élargissement des cavités nasales, la vitesse de l'air diminue. Il passe le long du septum et dans le méat ventral, principal passage de l'air inspiré chez le porc (BARONE, 1976). Les particules plus petites tels que les microorganismes sont emprisonnées dans le mucus du méat ventral qui est alors dirigé vers le nasopharynx.

En ce qui concerne la composition des sécrétions des cellules caliciformes, les sialomucines prédominent dans les cavités

nasales du porcelet de 1 et 14 jours. Par contre, à 28 jours, les sialomucines deviennent les plus importantes. Cette évolution des sécrétions acides avec l'âge ressemble à celle de l'homme (THAETE et al, 1981) et des primates en général (LEELA et KANAGASUNTHERAM, 1973). Cette «maturation» des cellules caliciformes dans le sens rostro-caudal ne semble pas terminée à 28 jours puisqu'il y a encore beaucoup de cellules sécrétant des sialomucines dans la région caudale des porcelets à cet âge, tel qu'observé chez le singe par ST-GEORGES et al (1984).

L'importance des mucosubstances dans la pathogénie des infections respiratoires est suggérée par l'affinité des microorganismes pour les glycoprotéines. Ainsi, il a été démontré que *B. bronchiseptica* présentait une forte affinité pour les glycoprotéines carboxylées. Celles-ci agiraient alors comme récepteurs (ISHIKAWA et ISAYAMA, 1987). Ainsi, la présence de grande quantité de sialomucines dans les sécrétions nasales chez le porcelet nouveau-né, permettrait à *B. bronchiseptica* d'exercer son pouvoir ciliostatique sur les cellules épithéliales respiratoires ciliées (BEMIS et KENNEDEY, 1981) et donc de coloniser les cavités nasales. L'évolution avec l'âge du porcelet vers des cellules caliciformes sécrétant des sulfomucines pourrait expliquer la plus grande susceptibilité du porcelet nouveau-né à la rhinite atrophique à *B. bronchiseptica*.

En conclusion, la composition chimique du mucus qui recouvre l'épithélium respiratoire cilié des cavités nasales du porcelet constitue un milieu favorable à la colonisation de *B. bronchiseptica*. Pour les premières semaines de vie, le mucus des cavités nasales constitue donc un facteur de susceptibilité à la rhinite atrophique.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été subventionné par le Ministère des Etudes Supérieures, de la Science et de la Technologie du Québec par son programme des Actions Structurantes et par une subvention du CORPAQ (Conseil des recherches en Pêche et Agro-Alimentaire du Québec).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BARONE R., 1976. Anatomie comparée des mammifères domestiques, Ecole Nationale Vétérinaire, Lyon.
- BEMIS D.A., KENNEDY J.R., 1981. J. Infect. Dis. 144, 349-357
- CHEVILLE N.F., 1983. In «Cell Pathology» 2è éd., Iowa State University Press, Ames, USA, pp530-558.
- COLLINGS L.A., RUTTER J.M., 1985. J. Med. Microbiol. 19, 247-258.
- CURTIS S.E., 1983. In «Environmental Management in agriculture» Iowa State University Press, Ames, USA, 247-263.
- ISHIKAWA H., ISAYAMA Y., 1987. Infect. Immun. 55, 1607-1609
- LAROCHELLE R., MARTINEAU-DOIZE B., 1990. Acta Anat. (sous presse).
- LEELA K., KANAGASUNTHERAM R., 1973. J. Anat. 116, 409-416.
- MARTINEAU-DOIZE B., MARTINEAU G-P., 1986. Am. J. Vet. Res. 47, 416-421.
- MORGAN K.T., JIANG X., PATTERSON D.L., GROSS E.A., 1984. Am. Rev. Resp. Dis. 130, 275-281.
- MOWRYR., WINKLER C., 1956. Am. J. Pathol. 32, 628-629
- PROCTOR D.F., 1982. In «The nose; upper airway physiology and the atmospheric environment. Proctor D.F., Andersen I. eds. Elsevier Biomedical Press, Amsterdam. p245-278.
- PROCTOR D.F., CHANG J.C.F., 1983. In «Nasal tumors in animals and man». Reznik G., Stinson S.F. eds. CRC Press, Boca Raton, USA p1-33.
- SPICER S., 1965. J. Histochem. Cytochem. 13, 211-234.
- ST-GEORGES J.A., NISHIO S.J., CRANZ D.L., PLOPPER G.G., 1986. Anat. Rec. 216, 60-67.
- THAETE L.G., SPICER S.S., SPOCK A., 1981. Am. J. Anat. 162, 243-263.
- YOKOMIZO Y., SHIMIZU T., 1979. Res. Vet. Sc. 27, 15-21.