



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire



وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur Et de la Recherche Scientifique  
جامعة الطارف معهد العلوم البيطرية  
Université D'El Tarf Institut Des Sciences Vétérinaires

Projet de fin d'étude  
Présenté en vue de l'obtention d'un diplôme de Docteur Vétérinaire

## **Enterotoxémie: comparaison des formes ovines et caprines**

**Présenté par :**

Marouf nabil  
Latreche laidi

née le :05/08/1995  
née le :19/09/1995

**soutenu publiquement devant le jury :**

**Président** : M. rezig fetheddine . M.A.A .université d'el taref .

**Examineur**: M. atia khireddine .M.A.B.université d'el taref.

**promoteur** : M.bouزيد riad. M.A.C. université d'el taref.

novembre 2020



## Remerciement

*Louange à Dieu le tout puissant de m'avoir aidé et préserver*

*En tout premier lieu, Je remercie le docteur rezig fetheddine , Maitre-assistant chargé de cour histologie qui m'a fait l'honneur de bien vouloir accepter de présider cet honorable jury de mémoire.*

*Je remercie le docteur atia khireddine, Maitre-assistante chargée de cour UT qui a aimablement accepter de juger et critiquer ce travail  
Et pour sa disponibilité lors de mes demandes d'aide.*

*Sincères remerciements*

*A M. riad bouzid Maitre-assistante chargée de cour pathologie des ruminants, pour avoir suggéré et guidé ce travail, je lui exprime toute ma gratitude pour le temps qu'elle m'a consacré, ses précieux conseils, et tout l'intérêt qu'elle n'a jamais cessé de témoigner à l'égard de ce travail.*

*A mes parents,*

*Merci de m'avoir accompagné dans tout mes choix, merci pour votre soutien et votre compréhension. Je vous dois tout*

## ***Dédicace***

*Louange « ALLAH » maître de l'univers, et paix et salut sur notre prophète*

*« Mohamed »*

*Je dédie ce modeste travail :*

*A mes parents, pour tout ce que ils ont fait pour moi jusqu'au aujourd'hui. Merci pour votre amour, votre soutien et vos sacrifices qui m'ont permis de réaliser mon rêve. Je vous aime très fort.*

*A mon frère et ma sœur **marouf ines** . pour tout ce que vous m'avez apportés. J'ai confiance en vous et je suis fière d'être votre frère Je vous aime.*

*A toute ma grande famille surtout mon grand père **boussiki youcef** mon exemple dans cette vie et mon oncle **marouf azzedine** et ma chère tante **fariza** et ses petites **meriem** et **yousra chaalal***

*A tout mes amies : **mon chère amie souakri ammar (amimor)** et **oussama djelmid (cadna)** et **boumalek mouhemmed (tahar)** et **ilyass samah** et **issam benkharrat** avec **ses parents et enfin mon bras droit arbia khaled***

*A toutes nos soirées, y compris celles qu'on n'a pas passé ensemble ! J'espère qu'on aura encore de nombreux moments à partager.*

*Je vous adore tout simplement !*

*A tout mes enseignants depuis l'école primaire jusqu'à l'université.*

*A toute ma promotion.*

*A tous ceux que j'ai connus, je dédie ce mémoire.*

*Marouf nabil*

The background of the page is a soft-focus image of several pink roses with green leaves, arranged in a vertical line on the right side and scattered at the bottom left. The text is centered on a white background.

## *dédicace*

*Louange « ALLAH » maitre de l'univers, et paix et salut sur notre prophète*

*« Mohamed »*

*Je dédie ce modeste travail :*

*A mes parents, pour tout ce que ils ont fait pour moi jusqu'au aujourd'hui. Merci pour votre amour, votre soutien et vos sacrifices qui m'ont permis de réaliser mon rêve. Je vous aime très fort.*

*A mes frères et ma sœurs . pour tout ce que vous m'avez apportés. J'ai confiance en vous et je suis fière d'être votre frère Je vous aime.*

*A tout mes amies*

*A toutes nos soirées, y compris celles qu'on n'a pas passé ensemble ! J'espère qu'on aura encore de nombreux moments à partager.*

*Je vous adore tout simplement !*

*A tout mes enseignants depuis l'école primaire jusqu'a l'université.*

*A toute ma promotion.*

*A tous ceux que j'ai connus, je dédie ce mémoire.*

*Latreche laidi*





Méthodes diagnostiques .....	80
<b>2. MOYENS DE LUTTE.....</b>	<b>92</b>
Traitement .....	92
Mesures hygiéniques .....	92
Mesures médicales .....	92
Prophylaxie.....	94
Maîtrise des facteurs de risque .....	94
Vaccination.....	95
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>110</b>
<b>LEXIQUE DES ABRÉVIATIONS .....</b>	<b>112</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>113</b>

## LISTE DES FIGURES

---

FIGURE 1 : C. PERFRINGENS, FORME VÉGÉTATIVE [C.MANTECA CEVA SA].....	14
FIGURE 2: CARTE GÉNÉTIQUE DU CHROMOSOME DE C. PERFRINGENS CPN50 [ROOD 1998] .....	22
FIGURE 3 : PROPORTION DES DIFFÉRENTS TOXINOTYPES DE CLOSTRIDIUM DANS LES ENTÉROTOXÉMIES CAPRINES EN FRANCE [CHARTIER ET BROQUA 1995]. .....	40
FIGURE 4 : PROPORTION DES DIFFÉRENTS TOXINOTYPES DE CLOSTRIDIUM PERFRINGENS DANS LES ENTÉROTOXÉMIES OVINES [MANTECA ET AL. 2005].....	41
FIGURE 5 : ENTÉROTOXÉMIE OVINE. JÉJUNUM HÉMORRAGIQUE [C. MANTECA CEVA SA].....	67
FIGURE 6 : ENTÉROTOXÉMIE OVINE. ENTÉRITE HÉMORRAGIQUE [C. MANTECA CEVA SA]. .....	67
FIGURE 7 : ENTÉROTOXÉMIE OVINE. CONGESTION HÉPATIQUE [C. MANTECA CEVA SA].....	68
FIGURE 8 : ENTÉROTOXÉMIE OVINE. REINS PULPEUX [C.MANTECA CEVA SA]. .....	68
FIGURE 9 : ENTÉROTOXÉMIE CAPRINE. ENTÉRITE ET COLITE HÉMORRAGIQUE [AFSSA NIORT]. .....	69
FIGURE 10 : ENTÉROTOXÉMIE CAPRINE. CAILLETTE HÉMORRAGIQUE [AFSSA NIORT].....	70
FIGURE 11 : ENTÉROTOXÉMIE CAPRINE. INFLAMMATION DU CAECUM [AFSSA NIORT].....	70
FIGURE 12 : SCHÉMA MONTRANT LA DISTRIBUTION DES LÉSIONS DANS L'ENCÉPHALE D'AGNEAUX AYANT SUBI UNE INJECTION INTRA-DUODÉNALE DE CLOSTRIDIUM PERFRINGENS TYPE D. [UZAL ET AL. 2004] ...	77

## **LISTE DES TABLEAUX**

---

<b>TABLEAU I : CARACTÈRES CULTURAUX DE C. PERFRINGENS, C. SORDELLII ET C. SEPTICUM [ANN.3 2005, LATOUR 2004, SHOENIAN 2005].</b> .....	<b>15</b>
<b>TABLEAU II : PRINCIPALES MALADIES DUES À C. PERFRINGENS CHEZ LES OVINS ET LES CAPRINS : CLASSIFICATION TOXINGÉNIQUE [DAUBE 1992, MANTECA ET DAUBE 1994, UZAL 2004]</b> .....	<b>19</b>
<b>TABLEAU III: DÉFINITION DES NOUVELLES CATÉGORIES DE C. PERFRINGENS [DAUBE 1992]</b> .....	<b>26</b>
<b>TABLEAU IV : GÈNE, MODE D’ACTION ET ACTIVITÉ BIOLOGIQUE DES TOXINES DE C. PERFRINGENS [DAUBE 1992, LATOUR 2004, ROOD 1998].</b> .....	<b>28</b>
<b>TABLEAU V : MALADIES ASSOCIÉES AUX DIVERS TOXINOTYPES (CLASSIFICATION TRADITIONNELLE) DE C. PERFRINGENS, ESPÈCES CIBLES, RÉPARTITION [DAUBE 1992]</b> .....	<b>38</b>
<b>TABLEAU VI : FRÉQUENCE RELATIVE DES AGENTS ÉTIOLOGIQUES D’ENTÉROTOXÉMIE EN FONCTION DE L’ÂGE CHEZ LES OVINS ET LES CAPRINS [POPOFF 1989 ET 1994].</b> .....	<b>43</b>
<b>TABLEAU VII : ÉTUDE CLINIQUE DE L’ENTÉROTOXÉMIE TYPE D CHEZ LES OVINS ET LES CAPRINS. FRÉQUENCE RELATIVE DES SYMPTÔMES DÉCRITS DANS LA BIBLIOGRAPHIE [BLACKWELL ET AL. 1991, CHARTIER 2002, CLARK 2003, POPOFF 1994, UZAL 2004, VAN METRE ET AL. 2000].</b> .....	<b>62</b>
<b>TABLEAU VIII : GRILLE DES LÉSIONS NÉCROPSIQUES D’ENTÉROTOXÉMIE TYPE D [BLACKWELL ET AL. 1991, FERRER ET AL. 2002, POPOFF 1994, UZAL ET KELLY1 1998, UZAL 2004]</b> .....	<b>72</b>
<b>TABLEAU IX : PRÉSENCE ET VALEUR DIAGNOSTIQUE DE CLOSTRIDIUM DANS L’INTESTIN DES PETITS RUMINANTS [LATOUR 2004, ROOD 1998, SHOENIAN 2005, SONGER 1998, UZAL 2004].</b> .....	<b>83</b>
<b>TABLEAU X : VACCINS CONTRE LES INFECTIONS CLOSTRIDIENNES DISPONIBLES EN FRANCE POUR LES PETITS RUMINANTS EN 2005 [PETIT 2005].</b> .....	<b>101</b>
<b>TABLEAU XI : QUELQUES VACCINS VÉTÉRINAIRES CONTRE L’ENTÉROTOXÉMIE DISPONIBLES DANS LE MONDE [SHOENIAN 2005].</b> .....	<b>102</b>

## INTRODUCTION

---

L'entérotoxémie est un processus pathologique aigu, très souvent fatal, atteignant de nombreuses espèces animales et caractérisé par la diffusion dans le sang de toxines secrétées dans le tractus intestinal. *Clostridium* est considéré comme le principal agent étiologique de cette maladie, en particulier *Clostridium perfringens*. D'autres bactéries telle que *Escherichia coli* vérotoxique sont responsables d'entérotoxémie de manière très anecdotique.

Le syndrome débute à la faveur d'une rupture de l'équilibre de la flore intestinale. La prolifération des clostridies qui en résulte, s'accompagne d'un accroissement de la concentration en toxines dans l'intestin. La dégradation et l'augmentation de la perméabilité de la paroi digestive par ces toxines se solde par une diarrhée profuse et la toxi-infection du sujet.

L'entérotoxémie chez les petits ruminants constitue l'une des principales entités pathologiques en élevage intensif, tant sur le plan médical qu'économique. Etant donnée la faible valeur individuelle des animaux et le sombre pronostic des entérotoxémies, la maladie est abordée à l'échelle du troupeau.

L'objectif initial de ce travail consistait à mettre au point une méthode simple pour diagnostiquer l'entérotoxémie caprine. L'étude devait permettre d'identifier les principaux agents pathogènes *via* le typage par la détection de toxines et la méthode PCR ainsi que le dénombrement bactérien. Une autopsie de chaque cas visait également à répertorier les lésions et à établir une grille lésionnelle d'aide au diagnostic. Les expériences devaient avoir lieu au laboratoire de l'AFSSA site de Niort, sur des animaux suspects d'entérotoxémie amenés par les éleveurs eux-mêmes. Cependant, la baisse régulière du nombre d'autopsies effectuées à l'AFSSA ces dernières années et peut être la peur de découvrir des cas de tremblante chez les chèvres, ont dissuadé les éleveurs d'apporter leurs animaux morts pour les tests. Faute de cas, l'expérience a été remplacée par un sujet émergeant des divers articles lus au cours des recherches bibliographiques : la comparaison des entérotoxémies ovines et caprines.

Malgré les apparences et certaines pratiques, les ovins et les caprins sont deux espèces très différentes, dont l'élevage et la maîtrise sanitaire ne peuvent être adaptés de l'une à l'autre. Alors que l'étiopathogénie et les facteurs de risque d'entérotoxémie sont identiques, l'étude épidémiologique, clinique et nécropsique révèle de fortes variations d'une espèce à l'autre. La différence de réceptivité et de sensibilité est directement incriminée et joue un rôle important dans la prophylaxie *via* la vaccination.

Dans un premier temps, nous aborderons l'étiologie de l'entérotoxémie par une étude bactériologique. Ensuite, nous étudierons l'épidémiologie de la maladie, avec les facteurs de risque. Puis nous verrons comment diagnostiquer cette affection grâce à l'étude des symptômes et des lésions et grâce aux examens de laboratoire. Enfin nous détaillerons les moyens de lutte, en particulier la vaccination. Chacune de ces parties mettra en évidence les ressemblances et les différences entre les ovins et les caprins.

# I. ETIOPATHOGENIE DE L'ENTÉROTOXÉMIE CHEZ LES OVINS ET LES CAPRINS

---

## LES BACTÉRIES

### LES AGENTS RESPONSABLES D'ENTÉROTOXÉMIE CHEZ LES PETITS RUMINANTS

Les entérotoxémies des ruminants sont principalement dues aux bactéries du genre *Clostridium*. D'autres agents étiologiques peuvent être responsables de cette maladie tel que *Escherichia coli*, mais leur prévalence est tellement faible qu'il me semble inutile de les détailler. *Clostridium* est un bacille GRAM positif, anaérobie, tellurique et capable de sporuler. Chez les petits ruminants, on connaît 3 principaux agents d'entérotoxémie.

#### *Clostridium perfringens*

Responsable d'entérotoxémies, de toxi-infection alimentaires et de gangrènes gazeuses post-traumatiques [Ann.<sup>3</sup> 2005].

Synonyme : *C. welchii*, *enteritis necroticans* [Ann.<sup>3</sup> 2005].

#### *Clostridium sordellii*

Responsable de mort subite chez les ruminants par toxi-infection d'origine intestinale ou autre (génitale) [Clark 2003].

Synonyme : *Bacillus oedematis sporogenes*, *Bacillus sordellii* [Shoenian 2005].

#### *Clostridium septicum*

Responsable d'œdème malin chez de nombreuses espèces et d'un syndrome entérotoxémique associant des lésions de la caillette chez les petits ruminants [Songer 1998].

Les principaux agents étiologiques d'entérotoxémie sont les mêmes pour les ovins et les caprins : <i>C. perfringens</i> , <i>C. sordellii</i> et <i>C. septicum</i> .
---

## HABITAT

*C. perfringens* présente un habitat mixte : l'habitat anaérobie est le plus répandu dans l'environnement. La plupart du temps, *C. perfringens* type A est retrouvé dans les sols, l'air, l'eau ou les poussières mais c'est aussi un commensal des flores intestinales, vaginales ou des voies aériennes supérieures de l'Homme et des animaux. Il est occasionnellement rencontré dans le rumen, en faible nombre. Il est détruit dans l'abomasum. Dans les conditions normales, il peut être présent dans l'intestin grêle, le caecum et le colon.

Capable de tolérer une semi-anaérobiose, il contamine sous forme sporulée certains aliments (viande, lait, fruits, légumes) et sa présence dans les eaux est un critère de contamination fécale [Ann.<sup>3</sup>2005, Latour 2004].

Les autres types de *C. perfringens* ont essentiellement un habitat intestinal (ruminants).

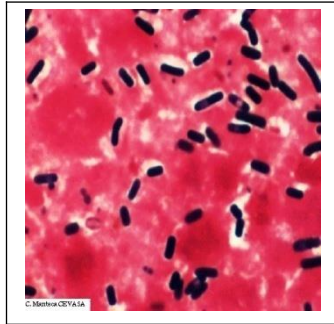
*C. sordellii* et *C. septicum* résident également dans le sol et l'intestin de l'Homme et des animaux [Latour 2004]. Cependant, certains auteurs soulignent la difficulté d'isoler *C. sordellii* dans la plupart des cas de clostridiose ou de mort subite. Cette rareté suggère qu'il n'est pas commensal du tube digestif [Shoenian 2005].

## MORPHOLOGIE

*Clostridium* peut être observé sous la forme d'une cellule végétative, dans l'intestin des ruminants le plus souvent, ou sous la forme sporulée, dans l'environnement.

### Cellule végétative

*C. perfringens* est un bacille épais et court, de 4 à 8 microns de long sur 1 à 1,5 microns de large, GRAM positif, non mobile car dépourvu de flagelle contrairement aux autres clostridies (figure 1).



**Figure 1 : *C. perfringens*, forme végétative [C. Manteca CEVA SA].**

*C. sordellii* et *C. septicum* sont des bacilles plus fins et plus courts. Ils sont mobiles. Les bactéries peuvent être isolées, liées 2 par 2 ou en amas. *In vivo*, *C. septicum* forme de longues chaînes [Ann.<sup>3</sup> 2005, Ferrer *et al.* 2002, Latour 2004].

*Clostridium* bénéficie d'un atout majeur pour la colonisation du milieu : la rapidité des générations. Un cycle de réplication ne dure que 10 minutes.

### **Spore**

La forme sporulée est une forme de résistance à la chaleur, aux rayons ultra-violets, à la dessiccation et à de nombreux désinfectants. *C. perfringens* peut ainsi subsister de longues périodes dans l'environnement, et 330 jours dans les viandes [Ann.<sup>3</sup> 2005].

Le déterminisme de la sporulation est environnemental : un arrêt de croissance bactérienne dû à un manque de molécules nutritives, à l'exposition à une atmosphère oxygénée, ou à la déshydratation provoque l'acquisition de cette forme de résistance. La présence de conditions de croissance favorables permet le retour à la forme végétative [Leonhart 2004].

## **CULTURE**

### **Culture sur milieu de type gélose au sang**

Le mode de culture le plus couramment utilisé est l'anaérobiose stricte sur gélose au sang ou gélose Columbia® avec 5% de sang de mouton, pendant 24 à 48 heures à la température optimale de croissance 37°C.

Les colonies de *C. perfringens* sont plates, brillantes et irrégulières. Placées 1 heure à 4°C, elles créent une double hémolyse: une hémolyse complète au contact de la colonie et un halo trouble de l'hémolyse incomplète [Ann.<sup>3</sup> 2005]. La double hémolyse est typique de *C. perfringens* [Phukan *et al.* 1997].

Les colonies de *C. sordellii* mesurent 2-3 mm de diamètre après 48h de croissance. Elles sont gris clair, avec une surface convexe et irrégulière. Le pourtour présente souvent une zone d'hémolyse [Shoenian 2005].

Les colonies de *C. septicum* sont cotonneuses et présentent une zone d'hémolyse.

### Milieux spéciaux

Le milieu TSN® contient des antibiotiques (néomycine polymyxine) et du citrate de fer permettant la mise en évidence du pouvoir sulfito-réducteur [Ann.<sup>3</sup> 2005]. *C. perfringens* a une production abondante d'H<sub>2</sub>S à partir des acides aminés soufrés. L'effet gazogène est observé pour toutes souches placées dans un milieu complexe. Ce critère est utilisé pour dénombrer *C. perfringens* dans les sols, eaux ou fèces par mesure de production de gaz [Latour 2004].

### Caractères cultureux de base (Tableau I)

Le diagnostic différentiel de *C. perfringens* est aisé grâce à la fermentation des glucides. La fermentation du lactose y est un caractère constant, absent chez *C. sordellii*.

**Tableau I : Caractères cultureux de *C. perfringens*, *C. sordellii* et *C. septicum* [Ann.<sup>3</sup> 2005, Latour 2004, Shoenian 2005].**

	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Clostridium sordellii</i>	<i>Clostridium septicum</i>
Gélatinase	-	+	+
Lécithinase	+	+	-
Glucose	+	+	+
Indole	-	+	-

Lipase	-	-	-
Lactose	+	-	+

## MODE D'ACTION

### Lyse des tissus

*Clostridium* secrète une exotoxine protéique, une phospholipase (lécithinase) qui désorganise les membranes cellulaires. Cette toxine antigénique a aussi une action hémolytique.

*C. perfringens* secrète aussi une hyaluronidase, une collagénase et une désoxyribonucléase dont l'action cellulaire favorise l'extension de l'infection. Ce pool enzymatique participe à la destruction des tissus, notamment de la muqueuse intestinale [Ann.<sup>2</sup> 2005]. Mais aucun facteur d'adhésion n'a été mis en évidence [Leonhart 2004].

### Augmentation de la perméabilité intestinale

Certaines souches de *Clostridium*, dont celles responsables d'entérotoxémie, sécrètent une entérotoxine, thermolabile [Ann.<sup>2</sup> 2005]. Libérée dans la lumière intestinale, elle agit en augmentant la perméabilité intestinale, favorisant ainsi l'entrée des bactéries et des toxines dans l'organisme.

### Intoxination

Suite aux destructions cellulaires et à l'augmentation de la perméabilité de la paroi intestinale, les toxines clostridiennes (puis les bactéries) sont à même de pénétrer dans l'organisme. Elles vont agir à un site cellulaire précis, différent pour chaque bactérie toxigène [Dart 2005].

Les toxines étant les principaux facteurs de virulence, leur concentration est étroitement corrélée à l'intensité du syndrome entérotoxémique et à la sévérité des lésions. La quantité de toxine libérée est proportionnelle à la multiplication bactérienne [Manteca 2003].

## SENSIBILITÉ ET RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES ET DÉTERGENTS

## **Sensibilité et résistance aux antibiotiques [Mainil et al. 2005]**

Il existe des résistances aux antibiotiques chez les animaux, spécialement pour les macrolides, lincosamide, les tétracyclines et le chloramphénicol. Les connaissances sur le mécanisme et l'aspect génétique de ces résistances sont aujourd'hui assez complètes.

### **0) LES BÉTA LACTAMINES**

Les pénicillines sont plus efficaces sur *Clostridium perfringens* que les céphalosporines. Les résistances aux pénicillines sont rares et la production de  $\beta$ -lactamase n'a pas été démontrée. Si une résistance aux pénicillines apparaît, elle traduit une baisse d'affinité de la molécule avec le récepteur PBP1 (Penicillin Binding Protein 1). Certaines souches sont résistantes aux céphalosporines de seconde et de troisième génération.

### **0) RÉSISTANCE AUX MACROLIDES, LINCOSAMIDES**

Le gène de résistance à l'érythromycine est actuellement dénommé *ermB* (Erythromycine Resistance Méthylase). Il permet la synthèse d'une méthylase qui provoque la diméthylation de l' $ARN^r$  23S. Ce gène est situé sur un plasmide. Son apparition chez *C. perfringens* serait due au transfert d'un plasmide de conjugaison d'*Enterococcus* ou de *Streptococcus*, suivi de la perte de la capacité de transposition. Un autre gène de résistance décrit chez *Clostridium* est *ermQ*.

### **0) RÉSISTANCE AUX TÉTRACYCLINES**

Plusieurs gènes de résistance aux tétracyclines ont été mis en évidence chez *C. perfringens*. Le plus courant est nommé *tetA(P)*. Pour des raisons non élucidées, il se situe soit sur le chromosome bactérien soit sur le plasmide. Son expression provoque la modification des flux sortants de la cellule. D'autres gènes sont connus, comme *tetB(P)* et *tetM*, qui codent pour des modifications ribosomiques. Toutefois, ces 2 gènes n'ont jamais été mis en évidence simultanément chez *C. perfringens*.

### **0) RÉSISTANCE AU CHLORAMPHÉNICOL**

La résistance au chloramphénicol n'est pas fréquente. Elle est due au gène dénommé *catP*, qui code une acetyl-transferase. Un autre gène peut être incriminé : *catQ*. Il est encore plus rare que *catP*.

## **0) SENSIBILITÉ AUX AUTRES ANTIBIOTIQUES**

*C. perfringens* est sensible à la plupart des autres antibiotiques, parmi lesquels on compte fluoroquinolones, metronidazole, linezolid et glycopeptides.

Aujourd'hui, les antibiotiques de choix utilisés pour le traitement d'une infection à *C. perfringens* sont les pénicillines et éventuellement les céphalosporines. Les résistances aux tétracyclines, au chloramphénicol et aux antibiotiques du groupe érythromycine-lincomycine limitent leur utilisation.

### **Sensibilité aux antiseptiques et désinfectants**

Les organismes sporulés sont relativement résistants. *C. perfringens* présente une sensibilité moyenne à l'hypochlorite de sodium à 1 % et est sensible aux désinfectants puissants [Smith et Sherman 2002].

## **CLASSIFICATION DE *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS***

### **Classification en toxinotypes**

La grande variété de toxines produites par *C. perfringens* a permis dans un premier temps la distinction de types et de sous-types.

Une première classification des souches de *C. perfringens* est fondée sur leur capacité à produire les 4 toxines majeures : alpha, bêta 1, epsilon et iota. On utilise donc une classification phénotypique. Cinq types de *C. perfringens* sont ainsi définis dans la classification de Wildson, datant de 1933 et encore souvent utilisée aujourd'hui (cf. Tableau II). Les 5 profils sont eux même subdivisés selon les types de production de toxines dites mineures [Manteca et Daube 1994]. Les toxinotypes A, B et C se divisent respectivement en 2, 2 et 5 sous-types. Mais la classification en sous-types a une utilité restreinte. Alors que certains sous-types, ont une spécificité géographique ou d'hôte, leur intérêt diagnostique est nul, puisque les anticorps neutralisants utilisés pour le diagnostic sont dirigés contre les toxines majeures. Les valences mineures ne sont pas vérifiées [Daube 1992].

Deux autres toxines majeures existent, l'entérotoxine et la toxine  $\beta_2$ , chez *C. perfringens* et ne sont donc pas utilisées pour le typage [Manteca et Daube 1994, Latour 2004, Uzal 2004].

Outre l'importance taxonomique de la classification phénotypique, elle permet de comprendre la pathogénie en associant chaque entité pathologique aux toxinotypes correspondants.

**Tableau II : Principales maladies dues à *C. perfringens* chez les ovins et les caprins : classification toxingénique [Daube 1992, Manteca et Daube 1994, Uzal 2004]**

<i>C. perfringens</i> type	Toxines majeures produites				Ovins	Caprins
	$\alpha$	$\beta$	$\epsilon$	$\iota$		
A <sup>(1)</sup>	++	-	-	-	Maladie de l'agneau jaune	Entérotoxémie
B <sup>(1 et 2)</sup>	+	++	+	-	Dysenterie de l'agneau	Entérite hémorragique
C <sup>(1 et 2)</sup>	+	++	-	-	Entérite hémorragique (jeune) Struck (adulte)	Entérite hémorragique
D	+	-	++	-	Maladie du rein pulpeux	
E	+	-	-	++	Entérotoxémie	Entérotoxémie

++ Principale toxine produite

+ Toxine secondaire, en général produite en quantité moindre

- Toxine non produite

<sup>(1)</sup> Sous type

### **Classification génotypique [Rood 1998]**

Des souches de même toxinotype pourraient avoir des génomes différents, avec la mobilité probable de gènes de la virulence, notamment des gènes plasmidiques [Daube 1992]. La

classification phénotypique, jugée trop restreinte, est progressivement abandonnée au profit d'une classification génotypique (Tableau III).

**Tableau III : Toxinotypes et génotypes associés de *Clostridium perfringens* [Latour 2004].**

TOXINOTYPE	GÉNOTYPES ASSOCIES
A	<i>plc</i> <i>plc, cpe</i> <i>plc, cpb2</i> <i>plc, cpb2, cpe</i>
B	<i>plc, cpb1, etx</i> <i>plc, cpb1, etx, cpe</i>
C	<i>plc, cpb1</i> <i>plc, cpb2</i> <i>plc, cpb1, cpe</i> <i>plc, cpb2, cpe</i> <i>plc, cpb1, cpb2, cpe</i>
D	<i>plc, etx</i> <i>plc, etx, cpe</i>
E	<i>plc, iap, ibp</i> <i>plc, iap, ibp, cpe</i> <i>plc, iap</i>

1) **ÉTUDE GÉNÉTIQUE**

***Chromosome bactérien***

*C. perfringens* est la première bactérie GRAM positif chez qui la carte génétique a pu être dressée (figure 2).

La souche CPN50, qui sert de modèle, possède un chromosome circulaire de 3,6 Mb où 24 gènes ou régions génétiques ont été décodés. Le site d'origine de la réplication est nommé *oriC*. A proximité se trouve la plupart des gènes de toxines, soit 250 kb. Les gènes toxiques situés sur le chromosome bactérien sont : *plc* le gène de la toxine  $\alpha$ , *pfoA* le gène de la toxine  $\theta$ , *colA* le gène de la toxine  $\kappa$ , *nagH* gène de la toxine  $\mu$ , *nanH* et *nanI* gènes de la sialidase ... Le gène de l'entérotoxine, *cpe*, est variablement situé sur le chromosome ou un plasmide. Tous ces loci constituent paradoxalement la région la plus instable, pour des raisons non connues à ce jour. Au contraire, les gènes de régulation d'expression des gènes toxiques avoisinent le site de terminaison de la réplication, à l'opposé de *oriC*.

Les chromosomes de chacun des 5 toxinotypes ont une structure proche. La capacité de produire certaines toxines résulte de l'acquisition ou la perte de gènes de toxines spécifiques, situés sur des éléments extra-chromosomiques.

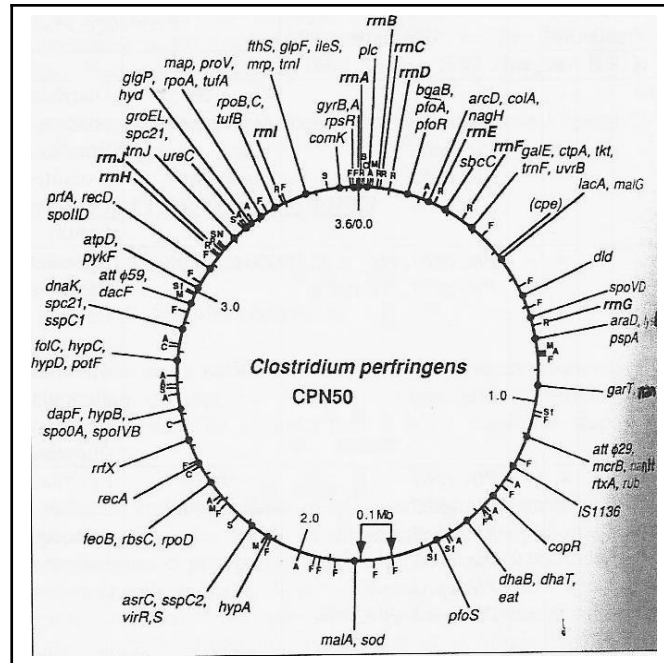


Figure 2: Carte génétique du chromosome de *C. perfringens* CPN<sub>50</sub> [Rood 1998]

### Gène *plc* : toxine $\alpha$

La comparaison des séquences en nucléotides du gène *plc* de chaque toxinotype, révèle une identité phylogénique. La toxine  $\alpha$  comporte le même enchaînement en acides aminés chez tous les types de *C. perfringens*, avec peu de variances. La différence entre le toxinotype A et les autres, résulte de la régulation de l'expression de *plc* et non d'une modification de sa séquence et l'aptitude à synthétiser les toxines  $\beta$ ,  $\epsilon$  et  $\iota$ .

Gènes *pfoA*, *colA*, *nagH* et *lam* :  
toxines enzymatiques

Le gène *pfoA* code pour la toxine  $\theta$ , perfringolysine O, dont l'action est hémolytique. Une étude sur *Escherichia coli* montre qu'une délétion sur le gène *pfoR* réduit l'activité hémolytique. Le gène *pfoA* semble donc régulé par *pfoR*. Cette hypothèse reste à confirmer pour *C. perfringens*. La perfringolysine module l'activité hémolytique du bacille, mais son rôle dans la virulence n'est pas essentiel.

Le gène *colA* est séparé de *pfoA* par 2 loci. Sa transcription donne une pro-collagénase, qui ne devient active qu'une fois libérée dans le milieu. Le rôle de la toxine  $\kappa$  dans la virulence reste à prouver.

De même, les gènes *nagH* et *lam* codent respectivement pour les enzymes  $\beta$ -N-Acetylglucosaminidase soit la toxine  $\mu$  et une caséinase, soit la toxine  $\lambda$ . Leur rôle dans la virulence demeure inconnu.

Gènes *nanH* et *nanI* : sialidase

Comme de nombreux pathogènes, *C. perfringens* produit une sialidase ou une neuraminidase, capables d'hydrolyser l'acide sialique, composant primordial des membranes cellulaires. Le gène *nanH* code pour une « petite sialidase », d'un poids moléculaire de 42,8kDa, qui semble provenir des toxines homologues de *C. sordellii* et de *C. septicum*. Le gène *nanI* code pour une « grande sialidase », d'un poids moléculaire de 73 kDa, dont la séquence en acides aminés présente 26% de similitude avec la « petite sialidase ». Leur modalité d'action varie : ces 2 enzymes agissent à des températures optimales propre sur des substrats différents.

***Plasmides***

Les plasmides sont des éléments extra-chromosomiques, instables et capables d'être transféré d'une bactérie à une autre, permettant ainsi un échange d'information génétique, l'acquisition de résistance ou l'apparition de nouveaux caractères.

Gène *cpb1* : toxine  $\beta_1$

Ce locus est situé sur un grand plasmide. De nombreuses ressemblances ont été identifiées avec le gène de la toxine  $\alpha$  de *Staphylococcus aureus*. La toxine  $\beta_1$  est constituée de 309

acides aminés. Elle est très instable dans le contenu digestif car sensible à la trypsine intestinale.

#### Gène *cpb2* : toxine $\beta_2$

Ce locus fut découvert récemment. Il est situé sur un grand plasmide. Longtemps confondue avec la toxine  $\beta_1$ , il s'est en fait avéré que ces 2 toxines avaient des séquences très différentes.

#### Gène *etx* : toxine $\epsilon$

Il est situé sur un grand plasmide. Le gène *etx* code pour une chaîne polypeptidique de 283 acides aminés, qui après clivage par la trypsine digestive, donne la toxine  $\epsilon$ . D'importantes similitudes ont été révélées, à hauteur de 20 et 27% de séquence identique avec les gènes *mtx2* et *mtx3* chez *Bacillus sphaericus*. Cette ressemblance peut être fortuite ou plus probablement due à une origine commune.

#### Gènes *iap/iab* : toxine $\iota$

La production de la toxine  $\iota$  caractérise le toxinotype E, particulièrement rare. L'expression de ces gènes est donc peu fréquente. Par ailleurs, il s'agit de la seule toxine, composées de 2 chaînes polypeptidiques. L'expression des gènes *iap* et *iab* obéit à un promoteur unique. De même que pour les autres gènes de toxines plasmidiques, une ressemblance a été établie avec la toxine de *Bacillus anthracis*, avec 33% de séquence identique.

### ***Régulation de la production de toxines***

Si on met en culture croisée 2 souches mutantes, toutes 2 incapables de produire la toxine  $\theta$ , on observe tout de même une hémolyse. Il a été prouvé que le premier mutant produisait une exo protéine, qui activait la synthèse de la toxine  $\theta$  chez le second mutant. En effet, le premier avait subi une mutation sur la séquence même du gène de la toxine, et le second avait subi une mutation sur le gène de la protéine activatrice. Tous 2 étaient inaptes à produire la toxine mais la culture croisée a permis une complémentation fonctionnelle. Cette expérience montre qu'il existe des substances activatrices et que la synthèse des toxines est régulée.

La régulation de l'expression des gènes toxiniques dépend de substances activatrices et du système *virS/virR*. Ces gènes sont chromosomiques. La protéine *virS* est enchassée dans la membrane cytoplasmique. Suite à son activation par une substance extra-cellulaire, elle subit une autophosphorylation. Une réaction en cascade démarre, *via* la protéine *virR*, qui induit la

transcription de gènes toxiques. Les loci sensibles à cette régulation sont *pfoA*, *nanH*, *nanI*, *colA* (et *colR* ?), *plrR*( ?) qui à son tour stimule l'expression de *plc*.

D'autres modalités de régulation existent, mais demeurent inconnues. [Rood 1998]

➤ **Entérotoxine**

C'est la seule toxine synthétisée en phase de sporulation. Elle est codée par le gène *cpe*, localisé sur le chromosome bactérien ou sur un plasmide. Seulement 6% des isolats de *C. perfringens* possèdent le gène *cpe* et produisent la toxine. Le déterminisme de la transcription du gène *cpe* n'est pas connu. L'hypothèse de promoteurs communs avec les gènes de la sporulation semble plausible [Rood 1998].

**0) NOUVELLE CLASSIFICATION**

Une simplification de la classification semble s'imposer au vu de l'affection décrite, même si certains marqueurs épidémiologiques se révèlent utiles pour le diagnostic de certaines souches. Cette classification ne repose plus sur le toxinotype mais sur la toxine principalement produite. On définit *C. perfringens* type A non producteur d'entérotoxine comme souche de base. Nous avons donc 5 catégories de souches : type A non entérotoxino-gène, celles produisant essentiellement les toxines  $\beta$ ,  $\epsilon$ ,  $\iota$  ou l'entérotoxine [Daube 1992].

**Tableau III: Définition des nouvelles catégories de *C. perfringens* [Daube 1992]**

<b>Catégorie</b>	<b>Facteur de virulence principal</b>	<b>Toxinotypes impliqués</b>
1	Toxine $\alpha$	Type A non entérotoxino-gène
2	Toxine $\beta$	Type B non entérotoxino-gène Type C non entérotoxino-gène Type C entérotoxino-gène
3	Toxine $\epsilon$	Type D non entérotoxino-gène Type D entérotoxino-gène
4	Toxine $\iota$	Type E (le gène <i>cpe</i> n'est pas exprimé)
5	Entérotoxine	Type A entérotoxino-gène

*C. perfringens* est l'agent principal d'entérotoxémie chez les petits ruminants. Les ovins et les caprins sont sensibles à chacun de ses toxinotypes, avec cependant des spécificités liées à l'espèce et à l'âge, induisant une variabilité au niveau de l'expression clinique. (cf II. Etiopathogénie et III Etude clinique). *C. sordellii* et *C. septicum* sont également responsables d'entérotoxémie chez les ovins et les caprins.

## LES TOXINES

### LES TOXINES DE *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS*

*C. perfringens* produit 17 toxines différentes (Tableau IV), mais seulement 5 ont un rôle avéré et déterminant dans la pathogénie : les toxines  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\epsilon$ ,  $\iota$  et l'entérotoxine [Daube 1992]. On distingue 3 principaux modes d'action des toxines majeures : la formation de pores membranaires, la déstabilisation des membranes cellulaires, qui perturbent la perméabilité membranaire des cellules cible, ainsi que l'altération du cytosquelette cellulaire. Les toxines mineures ont un rôle secondaire, parfois potentialisant l'action des toxines majeures. On ignore encore le rôle précis dans la pathogénie ou le mode d'action de certaines de ces toxines.

Tableau IV : Gène, mode d'action et activité biologique des toxines de *C. perfringens* [Daube 1992, Latour 2004, Rood 1998].

Toxine	Gène	Localisation	Activité biologique	Effet pathologique
$\alpha$	<i>plc</i>	chromosome	Phospholipase C-lécithinase, hémolysine, nécrotique, létale (détruite par la trypsine)	Augmentation de la perméabilité des endothéliums, cytolytique, hémolytique, leucocytaire
$\beta_1$	<i>cpb1</i>	plasmide	Nécrotique, létale (détruite par la trypsine)	Nécrose hémorragique de la muqueuse intestinale
$\beta_2$	<i>cpb2</i>	plasmide	Formation de pores ? Altération des membranes cellulaires ? (détruite par la trypsine)	Nécrose hémorragique de la muqueuse intestinale
$\epsilon$	<i>etx</i>	plasmide	Augmentation de la perméabilité capillaire, nécrotique, létale (activée par la trypsine)	Oedèmes, oedèmes périvasculaires, nécrose cérébrale et rénale
$\iota$	<i>iap/ibp</i>	plasmide	Actine spécifique-ADP-ribosyltransferase	Nécrose de la muqueuse intestinale
Entérotoxine	<i>cpe</i>	Chromosome/ plasmide	Formation de pores membranaires, vérotoxique, entérotoxique (résistante à la trypsine)	Fuite d'ions, déshydratation cellulaire, diarrhée
$\theta$	<i>pfoA</i>	chromosome	Hémolysine	Virulence secondaire
$\kappa$	<i>colA</i>	chromosome	Collagénase, gélatinase	Virulence secondaire
$\lambda$	<i>lam</i>	chromosome	Protéase : caséinase, gélatinase	Virulence secondaire
$\mu$	<i>nagH</i>	chromosome	Endo- $\beta$ -N-acétyl-glucosaminidase	Virulence secondaire
Sialidase	<i>nanI, nanH</i>	chromosome	Sialidase, neuraminidase	Virulence secondaire

**Toxine  $\alpha$**

Cette toxine est synthétisée par tous les types de *C. perfringens*. Elle n'est donc spécifique d'aucun type de *Clostridium*, sa détection n'a pas de valeur diagnostique. Elle est la toxine majeure de *C. perfringens* type A, chez qui elle est produite en plus grande quantité.

#### 1) CYTOTOXICITÉ

La toxine  $\alpha$  a une action phospholipase C. En présence d'ions calcium, elle hydrolyse la phosphatidylcholine et la sphingomyeline, deux composants importants de la membrane phospholipidique cellulaire. L'inactivation des pores membranaires conduit à une forte perturbation des flux ioniques, créant un appel osmotique : la diminution des entrées d'ions provoque une baisse d'hydratation dans la cellule. Chez le rat, l'injection *in vitro* d'une préparation avec la toxine  $\alpha$  sur anse colique ligaturée, provoque une sécrétion importante d'ions chlorure. La sortie d'ion Cl<sup>-</sup> est due d'une part aux prostaglandines, médiatrices de l'inflammation, d'autre part aux modifications de la concentration cellulaire en ions calcium. La sortie d'eau qui s'en suit contribue à l'effet cytotoxique de la toxine.

Chez les petits ruminants, aucune mesure des transports d'ions n'a été réalisée pour expliquer le mécanisme précis de cette sortie d'eau. Mais le modèle du rat semble pouvoir être rapporté à ces espèces [Mariano et Uzal 2005].

#### ACTION DANS L'INTESTIN

Le rôle de la toxine  $\alpha$  dans la pathogénie entérique n'est pas clairement défini. L'inoculation de toxine  $\alpha$  sur anses intestinales ligaturées d'agneaux induit une forte exsudation de liquide. Expérimentalement, il a été observé que l'augmentation de la perméabilité membranaire était biphasique. Ceci suggère la double action de la toxine  $\alpha$ : morphologique et physiologique. Le mécanisme reste flou, d'autant plus qu'aucune modification morphologique des entérocytes n'a été observée à ce jour. La toxine  $\alpha$  n'a donc pas de rôle majeur dans l'intestin, elle induit simplement une inflammation aiguë de la paroi intestinale, avec une exsudation dans la lumière iléale et colique, dans les 4 h qui suivent l'inoculation [Mariano et Uzal 2005].

#### ACTION DANS L'ORGANISME

Une fois absorbée dans le flux sanguin, la toxine  $\alpha$  provoque une augmentation de la perméabilité des vaisseaux sanguins. De plus, elle agit sur la membrane des hématies et provoque une hémolyse intravasculaire et l'agrégation plaquettaire. Il s'en suit de nombreuses lésions organiques et un état de choc [Mariano et Uzal 2005, Van Metre *et al.* 2000].

### **Toxine $\beta_1$**

Elle est produite par *C. perfringens* types B et C.

La toxine  $\beta_1$  est un polypeptide de 309 acides aminés. Elle a une action cytotoxique sur les villosités des cellules épithéliales par formation de pores membranaires. Son action nécrosante entraîne la destruction et la desquamation de la muqueuse. L'extension des lésions est rapide atteignant les cellules des cryptes, la lamina propria puis la musculature. Les pertes cellulaires induisent des hémorragies intra-luminales. L'absorption de la toxine qui s'en suit provoque des signes systémiques. Les organes cibles sont le cœur, les vaisseaux et les ganglions lymphatiques [Leonhart 2004, Niilo 1988, Rood 1998].

Cette molécule est lysée dans l'intestin par la trypsine. Les inhibiteurs de protéases digestives ou un déficit en sécrétion trypsinogénique favorisent l'expression de la virulence de la toxine  $\beta$  [Manteca *et al.* 2005].

L'instabilité de cette toxine dans le contenu intestinal peut venir contrecarrer un diagnostic correct et faire suspecter à tort *C. perfringens* type A comme responsable de la maladie.

### **Toxine $\beta_2$**

Longtemps confondue avec la toxine  $\beta_1$ , la toxine  $\beta_2$  a d'abord été isolée sur des porcs présentant une entérite nécro-hémorragique, et plus tard chez d'autres espèces dont l'agneau et le chevreau. Malgré des similitudes biologiques, leur séquence en acides aminés ne présente aucune homologie significative et elles sont différentes d'un point de vue sérologique, sans réaction croisée possible.

La toxine  $\beta_2$  a une action cytotoxique par formation de pores membranaires, elle est responsable de lésions nécrotiques, hémorragiques graves, d'abord de l'intestin puis après son absorption sur les organes internes [Dray 2004, Manteca *et al.* 2002, Manteca *et al.* 2003].

Cette toxine majeure peut être associée avec la plupart des toxinotypes, mais plus principalement avec *C. perfringens* type A. Les types C et D peuvent aussi produire la toxine  $\beta_2$ , mais plus rarement [Dray 2004].

Une synergie entre les toxines  $\alpha$  et  $\beta_2$  est suspectée. On considère que 60% des cas d'entérotoxémie du veau sont dus à l'action couplée de ces 2 toxines [Manteca et al 2003]. Chez les petits ruminants, un cas d'entérotoxémie type A a été diagnostiqué chez un chevreau, où certains isolats bactériens portaient le gène de la toxine  $\beta_2$ , laissant présager un rôle de cette toxine dans l'entérotoxémie caprine [Dray 2004]. De même, des souches de *C. perfringens* type A contenant le gène  $\beta_2$  ont été isolées chez des ovins, mais aucune étude ne permet de préciser si cette toxine était effectivement produite [Manteca *et al.* 2005].

### **Toxine $\epsilon$**

Elle est produite par *Cl. perfringens* type B et D.

#### **1) STRUCTURE**

Cette toxine est constituée d'une chaîne polypeptidique de 38 kDa. Le gène correspondant est situé sur un plasmide. Il fut difficile à mettre en évidence jusqu'au moment où la méthode PCR a permis un diagnostic plus aisé.

La chaîne polypeptidique est tout d'abord synthétisée sous forme d'une prototoxine atoxique et thermostable. Elle est ensuite activée dans l'intestin, grâce à la trypsine pancréatique et la toxine mineure  $\lambda$ , qui catalysent le clivage au niveau du 16<sup>ème</sup> acide aminé [Manteca *et al.* 2005].

#### **CYTOTOXICITÉ**

La croissance de *Clostridium* conduit à l'accumulation de toxine  $\epsilon$  dans l'intestin. A la faveur d'une stase alimentaire, la perméabilité intestinale augmente rapidement et de grandes quantités de toxine sont absorbées. Des sensibilités spécifiques permettent une plus ou moins bonne résistance aux effets locaux de la toxine, et donc une plus ou moins grande résistance à sa pénétration dans l'organisme.

Quelques incertitudes demeurent quant à son rôle précis dans la pathogénie et son mécanisme d'action. En stimulant l'adénylcyclase membranaire, elle provoque une augmentation de

l'AMPc. Les réactions en chaîne qui suivent aboutissent d'une part à la glycolyse et d'autre part une augmentation de la perméabilité membranaire. Cette augmentation de l'AMPc explique donc l'hyperglycémie et la glucosurie observée chez les animaux malades [Popoff 1979, Manteca *et al.* 2005].

De nombreuses cellules de l'organisme possèdent des récepteurs membranaires à la toxine  $\epsilon$ . Selon le type de cellule ciblé, les conséquences sont variables [Uzal *et al.* 2003].

Mais les récepteurs de la toxine  $\epsilon$  ne sont pas clairement identifiés. De même, les modalités d'actions demeurent inconnues : la toxine  $\epsilon$  agit-elle seule ou associée, directement ou indirectement ? Quel est le rôle du micro-organisme lui-même ?

Des pistes se dessinent : il a été démontré *in vitro* que la toxine  $\epsilon$  seule n'avait pas d'action sur les cellules endothéliales. Ceci suppose action couplée avec d'autres toxines ou avec des molécules présentes dans le sang, ou encore en interaction avec la paroi des vaisseaux. [Uzal *et al.*<sup>1</sup> 1999] Pour éclairer ces hypothèses, la toxine  $\epsilon$  purifiée a été injectée en intraveineuse chez l'agneau. Des symptômes et des lésions identiques à ceux d'une entérotoxémie type D sont réapparus. Le rôle de la toxine  $\alpha$  ou des autres toxines ainsi que de *Clostridium* lui-même serait alors minime dans la pathogénie. [Uzal *et al.* 2003]

Les rôles des parois vasculaires et des cellules sanguines n'ont pas été précisés.

#### **ACTION SUR L'ENDOTHÉLIUM DE L'ENCÉPHALE**

Le modèle étudié jusqu'à ce jour est celui des cellules MDCK (Madin Darby Canine Kidney). Ce sont des cellules épithéliales rénales, qui servent souvent comme modèle d'étude des épithéliums et endothéliums. La toxine  $\epsilon$  s'associe à un récepteur spécifique présent sur la membrane des cellules MDCK, formant un complexe de 155 kDa. La cytotoxicité apparaît simultanément à la formation du complexe. Si ce mécanisme était valable dans l'encéphale, il expliquerait la dégénérescence et la nécrose spécifique des cellules endothéliales *in vivo* [Uzal *et al.*<sup>1</sup> 1999].

L'expérience a été reproduite, sans succès, sur des cellules endothéliales de la crosse aortique. On ne peut pourtant pas conclure qu'un tel résultat serait obtenu avec les cellules endothéliales de l'encéphale car elles sont particulières : jonctions inter cellulaires serrées, faible taux d'endocytose, déficit en collagène périvasculaire, membrane basale épaissie et association intime avec les astrocytes.... Ces spécificités assurent l'efficacité de la barrière hémato-méningée à assurer l'homéostasie du milieu extra cellulaire céphalique. [Chen *et al.*

1998] A ce titre, elles ne peuvent être étudiées de la même manière que les cellules endothéliales des vaisseaux.

#### **ACTION SUR LES CELLULES NERVEUSES**

La toxine  $\epsilon$  est responsable d'une symptomatologie nerveuse importante dans le cadre des entérotoxémies B et D. Elle provoque la libération d'acétylcholine au niveau des terminaisons nerveuses cholinergiques. A faible dose, elle induit la libération excessive de glutamate, d'où d'importants dommages neuronaux. [Manteca *et al.* 2005]

La toxine  $\epsilon$  agirait directement sur les astrocytes en perturbant la dynamique des fluides jusqu'à la mort cellulaire [Uzal *et al.*<sup>1</sup> 1999]. Il est été mis en évidence que la toxine  $\epsilon$  pouvait agir directement sur les neurones chez le rat, induisant leur dégénérescence et leur nécrose. Les lésions cérébrales alors observées n'étaient pas dues à la microangiopathie [Uzal *et al.* 2004].

L'existence d'un récepteur à la toxine  $\epsilon$  sur les astrocytes permettrait d'expliquer les différences lésionnelles observées chez les ovins et les caprins. Alors que les premiers présentent systématiquement des lésions d'encéphalomalacie, l'encéphale des seconds reste le plus souvent intact. Le récepteur serait présent chez les ovins et absent ou non fonctionnel chez les caprins [Uzal *et al.*<sup>1</sup> 1999].

#### **CONSÉQUENCES LÉSIONNELLES DANS L'INTESTIN ET DANS L'ORGANISME**

L'action sur les endothéliums permet une augmentation de la perméabilité vasculaire, donc la formation d'oedèmes. Il en résulte : œdème et nécrose du système nerveux responsables de troubles nerveux, œdème périvasculaire et intra lobulaire au niveau des poumons, œdème myocardique et péricardique, pétéchies sur les séreuses, lésions rénales s'accroissant après la mort par la lyse rapide du parenchyme rénal. L'action sur les hépatocytes provoque la destruction des réserves de glycogène et donc une hyperglycémie, suivie d'une glucosurie. Une action sur les macrophages est également décrite.

La toxine  $\epsilon$  est une des plus puissantes toxines produites par *C. perfringens*. Les lésions cérébrales et vasculaires sont les plus fréquentes et les plus caractéristiques.

Cette toxine quoique résistante, n'est pas retrouvée systématiquement dans le contenu intestinal : soit elle est absorbée dans l'organisme, soit elle est détruite dans l'intestin quelques heures après la mort de l'animal. Son utilisation pour le diagnostic d'entérotoxémie

s'en trouve limitée. Pour le typage d'une souche isolée, elle reste très utile [Popoff 1979, Uzal 2004, Uzal *et al.* 2003, Uzal et Kelly<sup>1</sup> 1998].

### **Toxine $\iota$**

Seul *C. perfringens* type E produit la toxine  $\iota$ . Elle est constituée de 2 chaînes polypeptidiques. Le composant actif a un poids moléculaire de 47,5 kDa. Il a un rôle ADP-ribosyltransférase spécifique du groupement Actine. Le second composant fait le poids moléculaire de 71,5 kDa et n'a qu'un rôle liant.

Son activité consiste à désorganiser le cytosquelette cellulaire en inhibant la régénération de l'actine [Rood 1998].

### **Toxine $\delta$**

C'est une toxine mineure produite par les souches types B et C. Son pouvoir pathogène s'exprime essentiellement chez les petits ruminants et les porcs. Elle provoque l'hémolyse des globules rouges par augmentation de la perméabilité membranaire [Manteca *et al.* 2005].

### **Entérotoxine**

Elle est produite par la plupart des souches en phase de sporulation du *Clostridium* dans l'intestin. Elle est constituée d'une chaîne polypeptidique de 34 kDa. Sa nature biochimique la rend thermolabile : elle perd son pouvoir toxique grâce un chauffage de 10 minutes à 60°C. L'entérotoxine agit sur la perméabilité membranaire aux acides aminés, ions, glucose, eau... de manière à inhiber la synthèse protéique, et par conséquent à diminuer la viabilité de la cellule. Son effet est donc principalement cytotoxique. Dans l'intestin, elle induit une réponse sécrétoire et de sérieuses lésions épithéliales [Lucas *et al.* 1991]. L'injection intraveineuse d'extraits bactériens de *C. perfringens* entérotoxino-gène sporulés chez des ovins induit des lésions de congestion intestinale, congestion du foie, de la rate, des poumons, des reins avec parfois de l'ascite et un hydrothorax. Cette expérience n'est cependant pas suffisante pour démontrer l'implication de *C. perfringens* type A entérotoxino-gène dans la maladie chez le mouton [Daube 1992].

L'entérotoxine est active sur de nombreux types cellulaires : entérocytes, hépatocytes... grâce à la reconnaissance d'un récepteur protéique membranaire appelé CPE-R.

Une étude révèle de nombreuses ressemblances structurales entre CPE-R et un récepteur membranaire isolé chez la souris, sur culture de cellules endothéliales, par une technique d'hybridation d'ADN. Ce récepteur est appelé MBEC<sub>1</sub> (Mouse Brain Endothelial Cells) et il est présent sur de nombreux endothéliums et épithéliums. Sa séquence en acides aminés a 71% de similarité avec celle de « human CPE-R » et aussi de nombreux domaines hydrophobes. Or chez la souris, le récepteur MBEC<sub>1</sub> a été mis en évidence au niveau de nombreux organes : encéphale, endothéliums artériel et veineux, cœur, rate, rein, foie, pancréas, mésentère, épithélium pulmonaire, trachée [Chen *et al.* 1998] ... Une voie de recherche reste à explorer pour connaître les modalités d'action de l'entérotoxine sur les organes cibles.

Cette toxine n'est plus détectable dans le contenu intestinal 6 heures après son inoculation intra-duodénale chez des ovins. Elle aurait donc une courte persistance dans l'intestin [Daube 1992].

#### LES TOXINES DE *CLOSTRIDIUM SORDELLII*

*C. sordellii* produit 2 toxines, une toxine hémorragique (HT) et une toxine létale (LT).

#### Toxine HT

La toxine HT (toxine hémorragique) est produite en phase de sporulation. Elle est de nature protéique et est inactivée à pH inférieur à 6,5 ou supérieur à 8,5.

Son mode d'action est proche de celui de la toxine A de *Clostridium difficile*. L'injection intra-dermique sur des cobayes met en évidence une action dermo-nécrotique, mais non létale. Sur des anses intestinales ligaturées, elle induit une nécrose hémorragique de la muqueuse iléale.

*In vivo*, la toxine HT provoque une entérite nécro-hémorragique, au niveau de l'intestin grêle. [Latour 2004]

## **Toxine LT**

La toxine LT (toxine létale) est produite pendant la phase de croissance bactérienne, et présente des similitudes antigéniques avec la toxine B de *Clostridium difficile*.

La toxine LT est de nature protéique. Le poids moléculaire est estimé à 25 kDa. Cette molécule est thermolabile et est dénaturée à pH inférieur à 5 ou supérieur à 8. L'action des protéases n'altère pas son activité biologique, sauf la  $\alpha$ -chimotrypsine qui induit une perte d'activité de 50%. En revanche, les traitements oxydants inactivent totalement la toxine. Des expériences de dénaturation ont révélé l'importance des acides aminés tryptophane et méthionine dans l'effet létal de la toxine. De plus, les ponts disulfures entre les groupements thiols sont primordiaux pour l'activité biologique [Popoff 1987].

L'effet toxique est multiple. Par injection intra-péritonéale ou intra-veineuse à des souris, la toxine a un effet létal. Par injection intra-dermique à des cobayes, elle provoque un œdème et un érythème. L'action sur la paroi digestive a été étudiée sur des anses intestinales ligaturées, et révèle une forte exsudation [Popoff 1987].

La toxine a un effet restreint sur la muqueuse digestive, mais lors d'infection clostridienne, l'augmentation de la perméabilité intestinale favorise le passage de la toxine dans l'organisme, avec des effets similaires à ceux observés par inoculation intra-péritonéale ou intra-veineuse [Leonhart 2004].

## **Rôle dans la pathogénie**

Les avis divergent quant au rôle de *C. sordellii* dans la pathogénie des entérotoxémies.

Il a été isolé seul ou associé à *Fusobacterium necrophorum*, *Clostridium bifermentis* ou *Clostridium sporogenes* dans la caillette d'ovins morts d'entérotoxémie. Le rôle pathogène de ces germes anaérobies ayant été écarté, *C. sordellii* devient l'unique responsable de la mort des moutons [Lewis et Naylor 1998]. Un autre argument est en faveur de sa pathogénicité : *C. sordellii* n'a été identifié que chez des animaux atteints d'entérotoxémie et semble absent chez l'animal sain. Pourtant, une étude récente révèle que les souches de *C. sordellii* isolées sur des bovins malades étaient négatives avec les sondes HT et LT [Manteca 2003]. Un résultat similaire a été obtenu sur des souches prélevées sur des ovins morts d'entérotoxémie [Manteca *et al.* 2005]. Il est donc peu probable que les toxines soient produites. De plus, ces souches sont biochimiquement proches de *C. bifermentis*, souche non pathogène.

Bien que *C. sordellii* soit isolé dans environ 15% des cas d'entérotoxémie ovine ou caprine, son rôle dans la pathogénicité est contestable.

#### LES TOXINES DE *CLOSTRIDIUM SEPTICUM*

*C. septicum* produit de nombreuses toxines potentiellement pathogènes : neuraminidase, Dnase, sialidase... Il produit également 2 toxines majeures.

La toxine  $\alpha$  agit principalement dans l'intestin. *C. septicum* synthétise une protoxine, qui, une fois fixée sur son récepteur, est activée par les protéases digestives. Les différents peptides ainsi activés migrent, se regroupent et forment un pore membranaire. Son action est létale, hémolytique et nécrotique [Manteca *et al.* 2005].

La toxine  $\beta$  agit plutôt dans l'abomasum et a une activité désoxyribonucléase. [Popoff 1994]

*Clostridium perfringens* produit une grande variété de toxines.

La bibliographie sur l'action des toxines clostridiennes chez les petits ruminants révèle de nombreuses études sur la toxine  $\epsilon$  et très peu sur d'autres toxines comme la toxine  $\alpha$ . Les scientifiques s'interrogent davantage sur l'entérotoxémie type D.

D'après les modes d'action, les phases de la pathogénie sont identiques chez les ovins et les caprins : altération et perméabilisation de la paroi intestinale, pénétration des toxines puis des bactéries dans l'organisme et action sur les organes cibles.

On distingue une variabilité spécifique au niveau de la sensibilité aux toxines. Les caprins seraient dépourvus de récepteurs à la toxine  $\epsilon$  fonctionnels dans l'encéphale. L'absence de récepteurs sur cet organe cible expliquerait la rareté des encéphalomalacies, contrairement aux ovins qui présentent très souvent des signes nerveux.

Par ailleurs, tous les mécanismes ne sont pas encore élucidés. On s'interroge sur l'action synergique des toxines  $\alpha$  et  $\beta_2$  dans l'entérotoxémie caprine type A, maladie causant des décès chez le chevreau.

## II. ÉPIDÉMIOLOGIE

### ÉPIDÉMIOLOGIE DESCRIPTIVE

#### ESPÈCES SENSIBLES ET RÉPARTITION GÉOGRAPHIQUE

*C. perfringens* est une espèce bactérienne présente dans le tube digestif de toutes les espèces animales et de l'Homme. Sa répartition est mondiale. Certains toxinotypes ont des spécificités géographiques ou d'hôte (Tableau V).

Tableau V : Maladies associées aux divers toxinotypes (classification traditionnelle) de *C. perfringens*, espèces cibles, répartition [Daube 1992]

Toxinotype	Symptomatologie associée	Espèces cibles	Distribution
A <sub>1</sub>	Gangrène gazeuse	Homme	Cosmopolite
	Mammite	Bovin	G-B, Japon
	Entérite nécrotique	Volaille	Cosmopolite
	Colite	Équins	Scandinavie
	Commensal de l'intestin, sol	Homme, animal	Cosmopolite
A <sub>2</sub>	Intoxication alimentaire	Homme	Cosmopolite
B <sub>1</sub>	Dysenterie de l'agneau	<b>Ovins</b> , bovins, équins	Afrique du Sud, G-B
B <sub>2</sub>	Entérotoxémie	<b>Ovins, caprins</b>	Iran
C <sub>1</sub>	Struck	<b>Ovins</b>	Afrique du Sud, G-B, Australie
C <sub>2</sub>	Entérite nécro-hémorragique	<b>Ovins</b> , bovins, équins	USA, G-B
C <sub>3</sub>	Entérite nécro-hémorragique	Porcelet	USA, G-B, Scandinavie
C <sub>4</sub>	Entérite nécro-hémorragique	Homme, volaille	Allemagne
C <sub>5</sub>	Entérite nécro-hémorragique	Homme	Papouasie nouvelle Guinée
D	Entérotoxémie	<b>Ovins, caprins</b> , bovins	Cosmopolite
E	Entérotoxémie	<b>Ovins</b> , bovins	G-B, Australie

Chez les caprins, *C. perfringens* A et D sont les plus souvent incriminés lors d'entérotoxémie. Les autres types ont été cependant signalés : *C. perfringens* B en Iran et *C. perfringens* C en Angleterre et aux Etats-Unis [Chartier et Broqua 1995]. Les ovins sont sensibles à davantage de toxinotypes différents, mais les toxinotypes A et D demeurent les plus fréquents [Songer 1998].

#### IMPORTANCE ET PRÉVALENCE EN FRANCE

L'importance de la maladie est tout d'abord médicale, car l'issue est souvent fatale. Elle est aussi économique car elle occasionne des pertes d'effectif et des chutes de production.

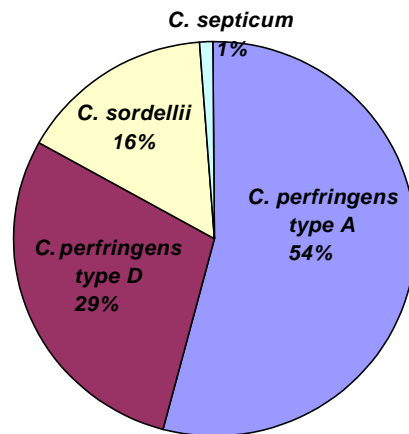
En France, l'entérotoxémie constitue une dominante pathologique des petits ruminants, plus particulièrement en élevages intensifs. Etant donné la faible valeur économique individuelle de ces animaux, les examens et les prélèvements *post-mortem*, pourtant indispensables à la confirmation et à la précision du diagnostic, sont loin d'être systématiques.

Les données sur les petits ruminants, en particulier sur les chèvres, sont rares et souvent obtenues à partir de petits effectifs.

#### Chez les caprins

L'entérotoxémie est la seconde cause de diarrhées (20% des cas) chez la chèvre [Mitchell 1999]. De plus, 30% des autopsies caprines à l'AFSSA site de Niort sont des entérotoxémies. C'est un motif de réforme non négligeable : sur un taux de réforme moyen de 27% en élevage laitier intensif, la moitié des sorties ont une cause digestive : acidose et/ou entérotoxémie (motif de réforme exact parfois non différencié). Ces valeurs sont tributaires du mode d'élevage, puisqu'en Australie où l'élevage caprin est extensif, l'entérotoxémie ne représente que 6,8% des autopsies [Chartier 2002].

L'étude de 78 souches de *Clostridium* isolées au laboratoire d'étude et de recherche caprine (LERC) de l'AFSSA site de Niort, a révélé que le toxinotype *C. perfringens* A était isolé dans 54% des cas confirmés d'entérotoxémie, suivi de *C. perfringens* D avec 29% des cas, puis de *C. sordellii* avec 16% des cas et de *C. septicum* avec 1% des cas (figure 3) [Chartier et Broqua 1995].

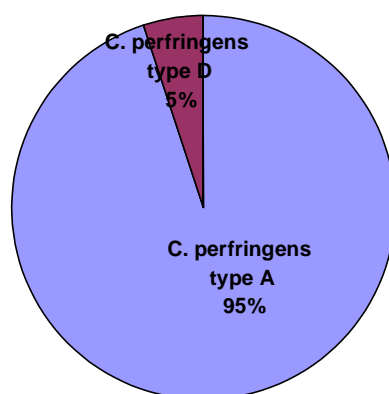


**Figure 3 : Proportion des différents toxinotypes de *Clostridium* dans les entérotoxémies caprines en France [Chartier et Broqua 1995].**

Parmi les entérotoxémies dues à *C. perfringens*, environ 65% sont causées par le type A et 35% par le type D. Malgré la prédominance apparente du toxinotype A, les scientifiques ont longtemps douté de sa réelle pathogénicité. Le toxinotype D est traditionnellement considéré comme le principal agent étiologique d'entérotoxémie caprine. Une étude menée sur des espèces exotiques met effectivement en évidence une prévalence du toxinotype D supérieure à celle du toxinotype A chez les chèvres [Sipos *et al.* 2003]. De plus, les méthodes modernes de laboratoire ont rapidement permis de reproduire des entérotoxémies de type D et de les modéliser assez efficacement. Les scientifiques ont validé la pathogénicité du type D mais pas celle du type A. Par ailleurs, le toxinotype A a été longtemps jugé inoffensif car ubiquiste et commensal de l'intestin. Les nouvelles méthodes de diagnostic arrivées dans les années 1990, comme la PCR et surtout ELISA ont permis de faire émerger l'hypothèse du toxinotype A. Cette hypothèse n'a pas encore fait ses preuves car l'entérotoxémie de type A est difficilement reproductible expérimentalement [Manteca 2005 communication personnelle].

### Chez les ovins

Chez les ovins, l'incidence la plus élevée de l'entérotoxémie concerne les jeunes de 1 à 4 mois [Popoff 1979]. Une étude effectuée à l'échelle européenne révèle les résultats suivants pour la France (figure 4) : *C. perfringens* est l'agent majeur d'entérotoxémie ovine. Les toxinotypes impliqués sont d'abord le type A, suivi du type D [Manteca *et al.* 2005].



**Figure 4 : Proportion des différents toxinotypes de *Clostridium perfringens* dans les entérotoxémies ovines [Manteca *et al.* 2005].**

*C. perfringens* type A est le principal agent étiologique d'entérotoxémie ovine en France. Le toxinotype D est très minoritaire. Comme chez les caprins, on a longtemps pensé que le toxinotype A était inoffensif chez l'adulte et que la majorité des cas d'entérotoxémie étaient dus au toxinotype D. L'entérotoxémie de type A chez les ovins était traditionnellement décrite uniquement chez le jeune et appelée « maladie de l'agneau jaune ». Aucune autre forme de la maladie n'avait été décrite pendant longtemps. Les nouvelles méthodes diagnostiques comme le test ELISA et la PCR, permettent d'obtenir de mettre en évidence la forte prévalence du toxinotype A et de lui imputer un rôle pathogène.

Ces résultats ont été obtenus sur un échantillon de seulement 24 ovins. Ce faible effectif n'a pas permis la mise en évidence de certains agents étiologiques connus, mais moins fréquents, dans l'espèce ovine tels que *C. perfringens* B et C ou de *C. septicum*.

*C. sordellii* a été isolé chez 16% des individus, seul ou associé à *C. perfringens* type A. On ne lui impute pourtant pas d'effet pathogène. Les souches isolées n'étaient pas virulentes : les tests de détection des gènes de toxines majeures étaient négatifs. La situation semblerait différente dans le Sud de l'Europe (Espagne, Portugal). Des études supplémentaires sont nécessaires pour étayer cette hypothèse [Manteca *et al.* 2005].

#### FORME ÉPIDÉMIOLOGIQUE

Chez les ovins, les entérotoxémies évoluent sous forme de cas sporadiques (cas isolés dans le temps) ou de flambées épizootiques (nombreux cas sur une courte période), avec un taux de prévalence pouvant varier de 5 à 30% des animaux. Bien qu'il n'y ait pas de transmission directe de la maladie d'un animal à un autre, plusieurs cas simultanés peuvent apparaître dans un élevage du fait que tous les animaux sont soumis aux mêmes facteurs de risque [Popoff 1994].

L'allure des épisodes entérotoxémiques chez les chèvres est identique, mais dans certains élevages caprins, l'entérotoxémie peut perdurer de manière enzootique, avec apparition de nouveaux cas chaque semaine ou chaque mois. De plus, la chèvre présente une forme chronique, individuelle, rare et souvent non diagnostiquée, de la maladie [Smith et Sherman, 2002]. Les mécanismes de la chronicité à l'échelle de l'élevage ou individuelle sont inconnus. La persistance des spores de *C. perfringens* dans l'environnement à un haut niveau suite à l'excrétion par de nombreux animaux malades ou porteur, peut générer de nouveau cas spontanément [Chartier 2002].

#### CATÉGORIES D'ANIMAUX ATTEINTS

Le mode d'élevage intensif semble corrélé aux troubles entérotoxémiques. Les formes ovines et caprines ne sévissent pas dans les mêmes systèmes de production. Chez les ovins, l'entérotoxémie frappe davantage les agneaux à l'engraissement. Pour la chèvre, l'affection est plus fréquente chez l'animal adulte en production. Le toxinotype majeur varie en fonction de l'âge et l'espèce (Tableau VI) [Chartier et Broqua 1995].

**Tableau VI : Fréquence relative des agents étiologiques d'entérotoxémie en fonction de l'âge chez les ovins et les caprins [Popoff 1989 et 1994].**

Type de <i>Clostridium</i>	Nouveau né		Jeune (>3 sem)		Adulte	
	Ovin	Caprin	Ovin	Caprin	Ovin	Caprin
<i>C. perfringens</i> A	-	-	++	+	++	++
<i>C. perfringens</i> B	+	-	-	-	+	+
<i>C. perfringens</i> C	++	++	+	-	+	-
<i>C. perfringens</i> D	+	+	++	++	++	++
<i>C. perfringens</i> E	+	-	-	-	-	-
<i>C. sordellii</i>	+	+	+	+	+	+
<i>C. septicum</i>	-	-	+	+	-	-

- non décrit

+ possible ou rare

++ courant

Les raisons de cette spécificité ne sont pas totalement expliquées. L'âge et le mode d'élevage sont 2 facteurs de risque de forte influence. (cf. partie II.2.3 Facteurs de risque). L'entérotoxémie due à *C. perfringens* type A sévit davantage chez les adultes, les types B et C apparaissent essentiellement chez les nouveau-nés et le type D concerne tous les âges.

*C. sordellii* et *C. septicum* étant rare, ils n'ont été que peu observés. *C. sordellii* apparaît à tout âge [Popoff 1989 et 1994].

Les agent étiologiques majeurs d'entérotoxémie sont les mêmes chez les ovins et les caprins. En France, *C. perfringens* type A est le plus souvent incriminé, suivi de *C. perfringens* type D. *C. perfringens* type D semble plus fréquent chez les caprins. Mais les données de terrain recueillies en France ne s'accordent pas avec les données bibliographiques internationales. Etant donné l'engouement scientifique pour *C. perfringens* type D dans les autres pays, il semblerait qu'il soit le principal agent étiologique d'entérotoxémie chez les ovins et les caprins en dehors de l'Europe.

*C. sordellii* apparaît dans 15% des cas d'entérotoxémie, mais sa virulence est discutée. Elle semble écartée chez les ovins en France. Des études supplémentaires sont nécessaires pour préciser la pathogénicité de cette bactérie chez les caprins.

La forme épidémiologique de la maladie diffère selon l'espèce. L'entérotoxémie ovine touche essentiellement les agneaux à l'engrais. La forme caprine sévit plutôt dans les élevages laitiers intensifs. L'âge est un paramètre important qui détermine le principal agent étiologique.

La maladie se présente classiquement sous la forme de flambées épizootiques ou de cas sporadiques. Une forme chronique existe chez les caprins.

## ÉPIDÉMIOLOGIE ANALYTIQUE

### SOURCES

Deux sources de contamination pour les ruminants sont connues : les sols, où *C. perfringens* résiste sous forme sporulée plusieurs mois voire années, et les animaux sains ou malades, qui excrètent les *clostridies* dans leurs fèces.

#### Les sols

Les sols souillés par les matières fécales peuvent contenir  $10^4$  UFC/g [Duchesnes *et al.* 2005]. Cette valeur sous estime probablement la charge réelle en bactérie, car le nombre de spore est souvent supérieur aux UFC.

Les *clostridies* sporulés survivent de longues périodes dans les sols et l'environnement.

#### Le tractus digestif des animaux

##### 1) CHEZ LES ANIMAUX NOUVEAU NÉS

A la naissance, le tractus digestif stérile est colonisé, chez la plupart des espèces animales, primitivement par *Escherichia coli*, *C. perfringens* type A et *Streptococcus*. Ces bactéries pénètrent par voie orale, lors des tétées (mamelle souillée) ou du léchage d'objets. Elles

constituent la flore intestinale avant d'être remplacées par une microflore à métabolisme lactique (lactobacilles, *Bifidobacterium*). Une étude chez les jeunes veaux montre que la population de *C. perfringens* est insignifiante dans la caillette, le duodénum et le jéjunum ( $<10^3$  UFC/g), elle est sensiblement plus élevée dans l'iléon ( $10^4$ - $10^5$  UFC/g) et peut être importante dans le caecum et les segments postérieurs ( $>10^8$  UFC/g).

Par la suite, la flore intestinale croît et le nombre de germes anaérobies se stabilise entre  $10^{10}$  et  $10^{11}$  bactéries par gramme de contenu intestinal [Popoff 1989].

### **CHEZ LES ANIMAUX ADULTES**

Sur 18 petits ruminants sains, *C. perfringens* et ses toxines ont pu être mis en évidence chez 13 individus, les 5 autres étaient indemnes de clostridies. L'analyse génétique des souches de *C. perfringens* prélevées sur ces 13 ovins et caprins, révèle la présence de la toxine  $\alpha$  dans 100% des prélèvements et de la toxine  $\epsilon$  dans 15% des prélèvements [Uzal 2004]. Une autre étude sur un effectif plus grand à l'abattoir, révèle que la toxine  $\epsilon$  est détectée chez 46% des ovins et des souches de *C. perfringens* type D ont été isolées [Daube 1992].

*C. perfringens* est donc une bactérie commensale de l'intestin des animaux, mais elle n'est pas présente chez tous les individus. *C. perfringens* type A semble plus fréquent que le type D. Les types B et C sont plus rares.

### **ÉCOLOGIE DIGESTIVE**

La population digestive des clostridies commensales de l'intestin est faible, estimée à moins de  $10^4$  UFC/g [Popoff 1994].

Il existe un équilibre entre les populations bactériennes. Cet équilibre dépend des interactions entre alimentation et bactéries d'une part et bactéries entre elles d'autre part. Plusieurs mécanismes assurent l'équilibre de la flore digestive : la compétition pour le substrat, la chaîne trophique, le pH, la production de composés toxiques, les traitements antibiotiques, le péristaltisme et les modifications de la bile [Popoff 1989].

Une rupture de l'équilibre (ou la destruction) de la flore intestinale libère des niches écologiques. Les bactéries à cycle court en profitent davantage, car elles prolifèrent plus vite

que les autres et colonisent le milieu. Dix minutes sont nécessaires entre 2 générations de *Clostridium*. En une heure, la bactérie réalise 7 cycles.

La rupture de l'équilibre de la flore digestive provoque donc une véritable explosion bactérienne, en faveur des clostridies [Philippeau *et al.* 2003].

## CONTAMINATION

### Contamination par *C. perfringens*

#### 1) CHEZ LE NOUVEAUNÉ

La contamination orale par un *Clostridium* toxigène dans les premières heures de vie peut permettre une colonisation à un niveau élevé du tube digestif par celui-ci du fait de l'absence totale ou partielle des effets répresseurs de la flore digestive. La bactérie se multiplie jusqu'à  $10^9$  UFC/g. *C. perfringens* types B et C se rencontrent dans le cadre d'une entérotoxémie chez les animaux de moins de 3 jours [Niilo 1988, Popoff 1989].

Les facteurs induisant la prolifération de *C. perfringens* type C et la production de toxine sont encore peu connus. Les clostridies se développent dans l'intestin au cours d'une période de jeûne ou de changement alimentaire chez l'agneau de moins de 10 jours. [Popoff 1994]

#### CHEZ LE JEUNE ET L'ADULTE

L'analyse génétique de souches pathogènes de *C. perfringens* type A chez des veaux malades a prouvé qu'elles étaient résidentes du tube digestif, et non des souches spécifiques d'entérotoxémie, particulièrement pathogènes et venues de l'extérieur [Manteca et al 2003].

Il a été également prouvé que la simple ingestion de *Clostridium* ne permettait pas le développement de la maladie car 90% de ces micro-organismes étaient détruits dans le rumen ou la caillette, et ne peuvent atteindre de duodénum [Uzal et Kelly<sup>1</sup> 1998].

Ces 2 exemples confortent l'hypothèse que le développement de l'entérotoxémie est dû à la prolifération de clostridies déjà présents dans le tractus digestif et non à la contamination brutale par des germes présents dans l'environnement des animaux.

Par ailleurs il existe une contamination orale, faible et constante des animaux, par les spores de l'environnement. Cette présence de bactéries et de toxines dans l'intestin des animaux sains se traduit par une séroconversion chez le mouton et chez la chèvre. Cette immunité naturelle n'empêche cependant pas les fortes pertes dues à l'entérotoxémie [Daube 1992].

## Contamination par *C. sordellii* et *C. septicum*

*C. sordellii* n'a été isolé que chez l'animal malade. Son absence chez l'animal sain sous entend que la contamination orale est déterminante pour la maladie [Shoenian 2005]. Il en va de même pour *C. septicum*. Des spores peuvent se loger dans le foie des ovins [Songer 1998].

*Clostridium perfringens* est une bactérie commensale de l'intestin, mais elle n'est pas présente chez tous les individus. Les jeunes animaux se contaminent primitivement par ingestion de bactéries lors des tétées sur des surfaces souillées par les fèces des adultes, ou de spores persistant dans l'environnement. Il existe aussi une contamination orale, faible et constante des adultes. La population clostridienne dans le tractus digestif est insignifiante car inhibée par les autres bactéries digestives. *C. perfringens* type A est plus fréquent que le type D. Les types B et C, ainsi que *C. sordellii* et *C. septicum* semblent absents chez les animaux sains.

Une rupture de l'équilibre de la flore digestive est favorable au développement de *Clostridium* car son cycle de réplication est très court. On assiste alors à une explosion de la population clostridienne.

### **FACTEURS DE RISQUE**

Les clostridies prolifèrent dans l'intestin à la faveur d'une rupture de l'équilibre de la flore intestinale. La rapidité du cycle de ces bactéries constitue un atout majeur pour coloniser le milieu. Les facteurs de risque de rupture de cet équilibre sont proches de ceux de l'acidose.

### **Atonie intestinale**

#### 1) **PARASITISME**

L'infestation parasitaire peut provoquer une modification de la flore intestinale, une diminution du péristaltisme, une augmentation de la perméabilité intestinale et une destruction de la muqueuse. Ces altérations du tractus digestif et le ralentissement du transit favorisent la prolifération des clostridies et la pénétration des toxines dans l'organisme.

Une helminthose intestinale, hépatique ou pulmonaire et une coccidiose sont des facteurs de risque fréquents d'entérotoxémie. D'une manière générale, ils potentialisent le développement et l'action de *Clostridium* [Popoff 1989, Uzal et Kelly 1996].

## ALIMENTATION

Les principaux facteurs de risque alimentaires sont les mêmes que ceux de l'acidose ruminale.

### ***Equilibre de la ration***

Une alimentation riche et concentrée constitue un facteur de risque important.

#### Chez le jeune

Les agneaux et les chevreaux nourris avec de grands volumes de lait maternisé ou allaités par une mère hautement productrice sont les candidats typiques à l'entérotoxémie. Paradoxalement, une forte croissance ou un bon état corporel appellent à la vigilance.

#### Chez l'adulte

Le déséquilibre permanent ou accidentel de la ration des adultes représente un facteur de risque à entérotoxémie. La faible fibrosité de la ration et la forte concentration d'aliments à fermentation rapide (ration acidogène) modifient la flore intestinale et favorisent le développement de *Clostridium*. Les alimentations hyper glucidiques pourraient stimuler la toxinégenèse. Par ailleurs, des travaux menés sur la reproduction expérimentale de la maladie ont mis en évidence que son succès était lié à la présence dans l'intestin d'aliments partiellement ou non digérés. Les protéines peu ou pas dégradées favorisent la multiplication des anaérobies qui ont un équipement enzymatique puissant par rapport à la flore acidogène qui préfère les acides aminés et les oligo-peptides [Popoff 1979].

Une ration riche en protéine est donc un facteur de risque important. Un déséquilibre de ration peut provoquer un état de chronicité. Plusieurs cas d'entérotoxémie peuvent apparaître étalés dans le temps.

### ***Changement alimentaire***

Le changement brutal de ration alimentaire est un facteur de risque important. Qu'il s'agisse de la reprise alimentaire après un jeûne ou d'une modification de ration, une transition

progressive est indispensable. En effet, le déséquilibre de la flore digestive et la fragilité passagère de la paroi intestinale occasionnés par le changement alimentaire sont des facteurs de prolifération de *Clostridium*. Un exemple courant est le passage du troupeau sur une nouvelle pâture, plus luxuriante. De même, un apport brusque et important de céréales ou de fourrage de haute qualité est une situation (accidentelle ou non) fréquemment à l'origine d'épisodes de maladie.

Cependant des troupeaux de chèvres peuvent être nourris avec une ration riche ou peuvent supporter des changements alimentaires brutaux sans pour autant développer la maladie. Selon eux, d'autres facteurs sont nécessaires à l'apparition de la maladie [Smith et Sherman 2002].

### ***Aliments contenant des anti-trypsiques***

Les rations contenant des inhibiteurs de protéases digestives (soja, luzerne...) risquent de déclencher des entérotoxémies. Ces aliments anti-trypsiques empêchent la dégradation de la toxine  $\beta$  par les enzymes digestives. Il a été possible expérimentalement d'induire la maladie chez un mouton adulte, en le nourrissant avec de la farine de soja et en lui inoculant *C. perfringens* type C [Daube 1992, Niilo 1988].

### ***Aliments contaminés***

Les aliments industriels ayant subi un traitement thermique insuffisant ou stockés dans de mauvaises conditions peuvent être vecteurs de *C. perfringens*. La toxine  $\alpha$  a notamment été isolée à plusieurs reprises (une étude menée par un laboratoire sur 3 ans, recense plusieurs cas chaque année) dans des aliments pour rongeurs ou oiseaux et elle aurait été responsable d'épisodes de mort subite avec entérite. Ces granulés n'induisent pas systématiquement une entérite clostridienne, mais ils constituent un facteur de risque probablement sous estimé [Greenham *et al.* 1987].

### ***Traitements***

Des surdosages de netobimin (Hapadex®) à hauteur de 4 fois la dose normale autorisée pour les chèvres et 7 fois la dose chez le bouc, se sont avérés responsables de cas d'entérotoxémie. Chez les caprins, le surdosage des anthelminthiques est fréquent pour deux raisons : l'utilisation hors AMM chez les caprins, l'administration parfois volontairement de doses doubles, et le drogage en dose unique pour l'ensemble du troupeau [Uzal *et al.* 1994].

La phénothiazine et certains traitements antibiotiques seraient responsables de la maladie chez des ovins. Un surdosage détruit la flore intestinale, laissant la place libre aux *clostridies* [Uzal *et al.* 1994].

### **Climat**

Des variations brutales du climat sont génératrices de stress et provoquent un affaiblissement de l'animal. Plusieurs cas d'entérotoxémie peuvent apparaître au sein d'un troupeau à la faveur d'une chute importante de température. L'ingestion d'eau glacée a été mentionnée comme facteur prédisposant chez les caprins [Uzal et Kelly 1996].

### **Mode d'élevage**

Les systèmes intensifs sont prédisposés au développement d'entérotoxémie. Le rationnement en est la principale raison. Les agneaux à l'engrais et les chèvres laitières en élevage intensif ou semi intensif sont ainsi particulièrement vulnérables. Au pâturage, quelques cas ont été cependant décrits chez la chèvre angora [Uzal et Kelly 1996].

Les facteurs de risque d'entérotoxémie sont globalement identiques pour les ovins et les caprins. Tout paramètre susceptible de provoquer un déséquilibre de la flore intestinale peut déclencher un épisode entérotoxémique. Une conduite d'élevage intensive avec un rationnement acidogène (agneaux à l'engrais et chèvres laitières), un parasitisme, un stress thermique, des traitements antibiotiques ou anthelminthiques, ... sont autant de facteurs de prédisposition.

Dans la mesure où la plupart de ces paramètres influencent le troupeau entier, il est plus fréquent d'observer des épisodes à allure épizootique.

## **SENSIBILITÉ SPÉCIFIQUE**

La sensibilité se définit comme étant l'aptitude à exprimer cliniquement l'action d'un agent pathogène.

### **Prédisposition raciale**

#### **1) SENSIBILITÉ DIGESTIVE : LES HYPOTHÈSES D'HIER ET D'AUJOURD'HUI**

L'entérotoxémie caprine se caractérise par une entéro-colite parfois associée à une toxémie. Les ovins présentent au contraire peu de signes digestifs, mais des symptômes généraux et nerveux (*cf.* III. Etude clinique). Par ailleurs, certaines races caprines (Angora) sont particulièrement vulnérables.

La variabilité d'expression clinique de la maladie chez les ovins et les caprins amène à supposer une différence de sensibilité digestive et systémique de ces deux espèces vis-à-vis de *C. perfringens* et en particulier de la toxine  $\epsilon$  sécrétée par *C. perfringens* type D.

Les facteurs de sensibilité aux toxines ne sont pas encore clairement établis. Plusieurs hypothèses sont émises mais aucune n'a été confirmée à ce jour [Uzal et Kelly<sup>1</sup> 1998].

#### ***Sensibilité de la muqueuse digestive [Uzal et Kelly<sup>1</sup> 1998]***

Chez les ovins, les lésions digestives sont rares et concernent préférentiellement l'intestin grêle. L'abrasion de la muqueuse duodénale et jéjunale permet la pénétration de la toxine dans l'organisme, donc des effets systémiques. Au contraire, chez les caprins, les lésions sont situées en aval, au niveau du caecum et du colon.

On pose alors l'hypothèse que si l'intestin grêle des chèvres était plus résistant aux effets des toxines, alors le risque d'intoxication sanguine diminuerait par défaut pénétration des toxines dans l'organisme. Les effets systémiques seraient moindres. En revanche, les toxines resteraient concentrées dans le tractus intestinal, ce qui augmenterait l'exposition de la muqueuse des segments distaux. La paroi du gros intestin étant de surcroît plus sensible, subirait alors d'importantes lésions de colite et de typhlite. Des expérimentations ont été menées pour étudier les effets de la toxine  $\epsilon$  chez les ovins et les caprins, et de la toxine  $\alpha$

chez les ovins sur les différentes portions du tractus digestif [Mariano et Uzal 2005]. Les résultats n'ont pas mis en évidence une différence de sensibilité au niveau de la muqueuse intestinale quel que soit le segment et quelle soit l'espèce étudiés.

Aucune étude à ce jour n'a permis de confirmer cette hypothèse, mais elle semble très plausible. L'identification de récepteurs toxiques sur les cellules épithéliales de l'intestin grêle ou la mise en évidence de facteurs d'activation des toxines seraient utiles pour préciser cette piste.

### ***Durée du transit digestif [Uzal et Kelly<sup>1</sup> 1998]***

Chez la chèvre adulte, le bol alimentaire séjourne 3 heures dans l'intestin grêle et 18 heures dans le colon. Le transit digestif est plus rapide chez les ovins, notamment au niveau du gros intestin. La rapidité de prolifération des clostridies dans le colon et une longue exposition à l'action des toxines pourraient expliquer l'ampleur des lésions coliques chez les caprins.

Une expérience infirme cette hypothèse : un chevreau développe une colite hémorragique et nécrotique moins de 5 heures après inoculation intra-duodénale de *C. perfringens* type D. Par ailleurs, le ralentissement du péristaltisme chez le mouton sous l'effet d'opium et *Belladonna* ne permet pas d'obtenir des lésions coliques similaires à celle des caprins.

La gravité des symptômes ne dépendrait donc pas de la vitesse de transit dans les différentes portions du tractus digestif.

### ***Action des enzymes digestives sur les toxines***

Une autre hypothèse propose que les toxines sont activées par des substances présentes dans le colon des chèvres. En effet, *C. perfringens* type D secrète une prototoxine qui nécessite le clivage du 49<sup>ème</sup> acide aminé pour être active, mais cette réaction est catalysée par la trypsine pancréatique et entérique au niveau du duodénum. La toxine  $\epsilon$  est alors activée dans l'intestin grêle et non dans le colon.

Cette supposition ne peut donc pas expliquer l'inconstance des lésions digestives chez les ovins et la gravité des lésions coliques chez les caprins [Uzal et Kelly<sup>1</sup> 1998].

### ***Immunité acquise naturellement***

Une infection subclinique permettrait l'absorption de toxine  $\epsilon$  à dose infime mais suffisante pour stimuler le système immunitaire. Des animaux sains et sans antécédent d'entérotaxémie clinique ni de vaccination peuvent alors présenter des anticorps sériques antitoxine  $\epsilon$ . Dans

certain cas, ce titre d'anticorps serait suffisant pour protéger d'une infection (0,1 UI/mL) [Uzal *et al.* 2004].

Cette immunité naturelle est connue depuis longtemps chez le mouton mais elle est plus récente chez la chèvre [Daube 1992].

#### **SENSIBILITÉ DES CELLULES CÉPHALIQUES [UZAL ET AL.<sup>1</sup>1999]**

La toxine  $\epsilon$  a un tropisme élevé pour les cellules endothéliales céphaliques ovines. La dégénérescence et la mort rapide de ces cellules ont été mises en évidence *in vivo*. La toxine  $\epsilon$  provoquerait la nécrose de l'endothélium vasculaire cérébral, aboutissant à une augmentation de perméabilité des parois vasculaires et donc à la formation d'oedèmes. Chez les ovins, les signes nerveux dus à l'oedème cérébral dominant le tableau clinique. Mais chez les caprins, les troubles neurologiques sont beaucoup moins fréquents et les convulsions peuvent être attribuées à l'hypoxie générée par l'oedème pulmonaire. Le rôle de la toxine  $\epsilon$  sur les cellules endothéliales et sur l'encéphale chez les caprins n'est pas établi.

L'hypothèse admise est qu'il existe un récepteur à la toxine  $\epsilon$  sur les cellules endothéliales vasculaires cérébrales ou les cellules nerveuses de l'encéphale chez les ovins mais pas chez les caprins. L'étude comparative entre cellules endothéliales (prélevées sur l'aorte) ovines et caprines révèle tout d'abord qu'aucune d'entre elle n'est altérée par la toxine  $\epsilon$ , même à forte concentration. La viabilité est estimée à 90%. Au contraire, les cellules MDCK sont détruites progressivement par le même traitement. L'ajout de sérum neutralisant antitoxine  $\epsilon$  permet la survie des cellules MDCK. L'existence d'un récepteur à la toxine  $\epsilon$  est prouvée pour les cellules MDCK. Alors qu'elles pouvaient servir de modèle applicable aux cellules de l'encéphale de mouton, l'expérience montre que les cellules endothéliales étudiées sont dépourvues de récepteur à toxine  $\epsilon$  tant chez les ovins que chez les caprins.

L'hypothèse n'a pas été totalement rejetée car l'étude était menée sur des cellules prélevées sur l'aorte et non sur des cellules endothéliales de l'encéphale, qui présentent de nombreuses particularités par rapport aux cellules endothéliales systémiques. Le doute persiste quant à la présence de récepteurs spécifiques à la toxine  $\epsilon$  sur les cellules endothéliales de la barrière hémato-méningée. L'étude demeure d'autant plus difficile que la toxine  $\epsilon$  seule reste inactive sur les cellules *in vitro*. L'absence d'éléments du sérum ou d'interaction avec la paroi vasculaire peut être aussi déterminante quant à l'échec de l'expérience.

### Age

L'entérototoxicité de types B et C atteint surtout les nouveau-nés dans leurs premiers jours de vie. La toxine  $\beta_1$  étant inactivée par la trypsine digestive, elle n'agit que dans l'intestin du jeune, chez qui le pool enzymatique est encore immature donc incomplet. Par ailleurs, le colostrum contient des anti-trypsiques. Il favorise donc l'action de la toxine  $\beta_1$  [Van Metre *et al.* 2000]. Les jeunes issus d'une mère vaccinée pourraient être protégés. Mais l'insuffisance colostrale ou les portées nombreuses sont des facteurs de risque non négligeables [Dray 2004]. Chez les animaux adultes, les épisodes d'entérototoxicité sont plutôt ponctuels et sont souvent provoqués par un passage brutal d'une ration pauvre en protéines à une ration plus riche [Niilo 1988, Daube 1992].

La plupart des études menées pour tenter de comprendre la variabilité d'expression clinique de l'entérototoxicité chez les ovins et les caprins portent sur la toxine  $\epsilon$ , donc sur l'entérototoxicité type D. La prédominance des lésions digestives dans l'entérototoxicité caprine n'est pas encore expliquée. Mais l'hypothèse la plus plausible porte sur une relative résistance de la muqueuse de l'intestin grêle aux effets de la toxine  $\epsilon$ , empêchant son entrée dans l'organisme et s'accumulant dans les parties caecale et colique. Les chèvres présentent donc des lésions digestives de typhlite et de colite alors que les ovins présentent plutôt des symptômes systémiques. La prédominance des signes nerveux chez les ovins n'est pas expliquée non plus. Les recherches portent essentiellement sur le récepteur de la toxine  $\epsilon$  au niveau des cellules endothéliales cérébrales. Mais les modalités de reconnaissance entre la toxine  $\epsilon$  et son récepteur ainsi que l'éventuelle absence de ce récepteur chez les caprins sont 2 questions qui restent en suspens. Le jeune âge est un facteur de sensibilité aux effets de la toxine  $\beta_1$ . Un pool enzymatique immature dépourvu de trypsine favorise le développement d'entérototoxicité types B et C.

Les différences potentielles d'activité de la toxine  $\alpha$  d'une espèce à l'autre, ne font le sujet d'aucune étude. Son rôle dans la pathogénie est jugé secondaire car elle n'a qu'une activité restreinte au niveau de la paroi digestive des ovins (*cf.* 1.2.1.1 Toxine  $\alpha$ ).

# 1. ETUDE CLINIQUE

---

Chez les ovins, les entérotoxémies touchent essentiellement les agneaux à l'engrais. La forme caprine se développe plus souvent chez l'adulte en production. Selon la nouvelle classification de *C. perfringens*, les catégories 1, 2, 3 et 4 sont responsables d'entérotoxémie chez les petits ruminants. Le type 5, *C. perfringens* type A entérotoxigène n'intervient que très peu. Il a été mis en évidence chez des ovins, mais son implication dans la maladie n'est pas confirmée (cf. I.2.1.7 Entérotoxine) [Daube 1992, Songer 1998].

## SYMPTÔMES

### ENTÉROTOXÉMIE À *C. PERFRINGENS* TYPE A

Entérotoxémie catégorie 1 [Popoff 1989].

Synonyme : maladie de l'agneau jaune

D'après les données de terrain sur la prévalence de *C. perfringens* type A en France et en Europe, l'entérotoxémie type A est la plus fréquente. Elle concerne les ovins et les caprins de tous âges [Chartier 2002, Manteca *et al.* 2005]. En dehors de celles portant sur « la maladie de l'agneau jaune », les recherches et les publications sur cette maladie sont quasi inexistantes. En effet, les scientifiques canadiens, suisses, australiens... étudient davantage l'entérotoxémie type D, dont la prévalence semble supérieure dans leur pays [Dray 2004, Miserez *et al.* 1998, Uzal *et al.* 2004]. Il semblerait qu'aucune description de la maladie chez la chèvre adulte n'ait été publiée à ce jour.

Le tableau clinique de la « maladie de l'agneau jaune » est dominé par un syndrome hémolytique aiguë avec un état de choc et un ictère, d'où elle tire son appellation. L'hémolyse intra-vasculaire due à l'action de la toxine  $\alpha$  sur la membrane des hématies provoque une hémoglobinurie, facilement observable. Le choc toxémique se traduit par un fort affaiblissement et une tachypnée. Contrairement à d'autres formes d'entérotoxémie, la diarrhée n'est pas fréquente. La mort survient en moyenne 12 heures après l'apparition des symptômes. Le diagnostic différentiel inclut les maladies ictériques de l'agneau : leptospirose, maladie hépato-biliaire, intoxication. On peut y ajouter également une autre clostridiose, qui sévit davantage chez les bovins : l'hémoglobinurie bacillaire [Van Metre *et al.* 2000].

Le chevreau développe une forme suraiguë différente de la « maladie de l'agneau jaune ». Elle est marquée par de fortes vocalisations, un pédalage, une hypothermie à 36,2°C et l'absence de défécation. L'animal meurt en moins de 12 heures. Cette forme a été observée chez des chevreaux de race Boer. La maladie résulterait de l'action synergique des toxines  $\alpha$  et  $\beta_2$  [Dray 2004].

#### ENTÉROTOXÉMIE À *C. PERFRINGENS* TYPE B

Entérottoxémie catégorie 2 [Popoff 1989].

Synonyme : dysenterie de l'agneau.

C'est un épisode aigu de diarrhée le plus souvent fatal, qui se déclare chez les agneaux de 1 à 15 jours. Dans les cas les moins foudroyants on observe une anorexie, un abattement, un décubitus et une diarrhée sanguinolente en phase terminale. Une phase de coma ou de convulsions est suivie du décès de l'animal [Popoff 1994]. Cette affection est à distinguer des autres causes de diarrhée néonatale de l'agneau : colibacillose, cryptosporidiose, virose digestive (coronavirus et rotavirus), salmonellose. Le diagnostic de l'entérottoxémie de type B dépend des observations *post mortem*. Les autres hypothèses diagnostiques peuvent être exclues par examen coprologique (test ELISA rapide) [Sargisson 2004]. Une forme chronique a été décrite chez les agneaux plus âgés, caractérisée par des douleurs abdominales sans diarrhée [Songer 1998].

Chez le mouton et la chèvre adulte, *C. perfringens* type B provoque une entérite hémorragique probablement due aux effets de la toxine  $\epsilon$  [Daube 1992, Songer 1998].

#### ENTÉROTOXÉMIE À *C. PERFRINGENS* TYPE C

Entérottoxémie catégorie 2 [Popoff 1989].

Synonyme : entérite hémorragique de l'agneau, « struck disease »

C'est une entérite hémorragique et nécrotique néonatale de l'agneau, de moins de 3 jours. L'espèce caprine n'est *a priori* pas concernée malgré quelques suspicions chez le chevreau [Van Metre *et al.* 2000]. Par ailleurs, ce type de *C. perfringens* se rencontre chez plusieurs espèces animales, telles que les porcins, les volailles, les bovins, les équidés et l'homme. Le

porc est l'espèce la plus sensible [Niilo 1988, Popoff 1989]. Bien que d'autres types de *C. perfringens* soient des hôtes normaux de l'intestin, le type C ne prédomine la flore intestinale que pendant ou après un épisode clinique.

Les animaux atteints sont d'abord apathiques et déprimés. Des diarrhées blanchâtres puis foncées car hémorragiques apparaissent. Chez l'agneau, la maladie ressemble à une entérotoxémie de type B, avec des signes nerveux en phase terminale, témoignant de la pénétration de la toxine dans l'organisme. On observe couramment une ataxie et parfois une rigidité musculaire et un opisthotonos [Niilo 1988, Popoff 1989].

La mise en évidence de la méningite, de la septicémie et de l'hypoglycémie est indispensable pour établir le diagnostic différentiel dans les cas où les symptômes digestifs sont frustrés [Van Metre *et al.* 2000].

Classiquement, la maladie dure quelques jours et la mortalité est importante après une phase comateuse entrecoupée de convulsions. En cas de diarrhée profuse, la mort survient en quelques heures. Parfois le déroulement peut être si aigu que l'animal meurt avant de présenter les signes de diarrhée.

Le diagnostic différentiel est celui des diarrhées néonatales de l'agneau. Dans les rares cas d'agneaux de plus de 15 jours, on distingue aussi cette forme d'entérotoxémie d'une coccidiose [Popoff 1994, Van Metre *et al.* 2000, Ferrer *et al.* 2002].

Quelques cas anecdotiques ont été diagnostiqués chez des jeunes ovins adultes entre 6 et 24 mois dans les pays anglo-saxons. La maladie est alors appelée « struck disease », qui signifie « bloqué ». Le tableau clinique ressemble à celui de l'entérotoxémie de type D : mortalité brutale, abattement profond, convulsions, coma et mort [Popoff 1989 et 1994].

#### **ENTÉROTOXÉMIE À *C. PERFRINGENS* TYPE D**

Entérotoxémie catégorie 3 [Popoff 1989].

Synonyme : maladie du rein pulpeux.

Cette affection se caractérise par la mort subite d'un ou plusieurs individus. Elle concerne aussi bien les ovins que les caprins, de tout âge. En période néonatale de l'agneau, l'entérotoxémie de type C est plus fréquente (*cf.* Tableau VII).

Les signes cliniques sont variables d'une espèce à l'autre. Cette différence est probablement due à une sensibilité spécifique de chaque espèce. Les réelles causes de cette variabilité sont encore peu connues [Van Metre *et al.* 2000] (*cf.* II.2.4 Sensibilité spécifique).

### **Entérotoxémie de type D des ovins**

Les symptômes nerveux dominent le tableau clinique : ataxie précoce, diminution des réflexes, puis léthargie, décubitus latéral, pédalage, convulsions et opisthotonos en fin d'évolution. Le réflexe pupillaire est en général conservé, mais il y a disparition du clignement à la menace, se qui caractérise une cécité. Une hyperesthésie et un nystagmus peuvent être observés de manière inconstante. La dyspnée est un symptôme récurrent et précoce. La diarrhée reste rare, inconstante et d'intensité variable. Certains auteurs distinguent la forme nerveuse, dominée par une ataxie et une hyperexcitabilité, de la forme comateuse [Van Metre *et al.* 2000, Uzal 2004].

L'injection intra-duodénale de *C. perfringens* type D sur des agneaux de 12 semaines provoque chez 100% des cas : léthargie, somnolence, décubitus latéral puis pédalage précédant la mort. Les selles sont parfois ramollies, mais ce signe est inconstant [Blackwell *et al.* 1991].

L'entérotoxémie ovine doit être différenciée d'autres causes de mort subite avec troubles du système nerveux : polioencéphalomalacie, intoxication par les plantes (Colchique, Grande Ciguë, If, Oenanthe Safranée, Rhododendron...[Centre National d'Informations Toxicologiques Vétérinaires]) toxémie de gestation, hypocalcémie, hypomagnésémie, hypoglycémie, traumatisme crânien, méningite, indigestion de sel ou privation d'eau ; et avec affection gastro-intestinale : parasitisme, intoxication, acidose ruminale, salmonellose, entérite virale.

L'évolution de la maladie est rapide, aiguë et l'animal succombe en quelques heures.

## **Entérotoxémie de type D des caprins**

Le tableau clinique est marqué par des signes digestifs aigus : diarrhée et douleurs abdominales. On distingue 3 formes d'évolution de la maladie.

### 1) **FORME SURAIGUË**

Une hyperthermie à 40,5°C marque souvent le début de la maladie. Les animaux présentent de fortes douleurs abdominales se traduisant par une distension abdominale, des coliques et des bêlements plaintifs. La diarrhée est très liquide, mucoïde, avec des caillots de sang, des débris de muqueuse et de la fibrine.

En fin d'évolution l'animal est couché, en état de choc sévère, parfois en opisthotonos et présente une tachypnée, une salivation intense et des convulsions. La mort survient moins de 24 heures après l'apparition des symptômes [Chartier 2002, Uzal et Kelly 1996, Van Metre *et al.* 2000].

### **FORME AIGUË**

C'est la forme d'entérotoxémie la plus fréquente chez l'adulte, même *a priori* bien vacciné [Chartier 2002]. Les symptômes sont identiques à la forme suraiguë mais la maladie évolue sur 2 ou 4 jours. La diarrhée fibrino-hémorragique domine toujours le tableau clinique. Des complications consécutives aux pertes liquidiennes peuvent apparaître : acidose métabolique et déshydratation intense. Un traitement précoce peut alors être mis en place. L'administration de sérum antitoxine  $\epsilon$  (*cf.* V.2.3. Sérothérapie) aide d'une part à la guérison et d'autre part à confirmer le diagnostic, si l'animal répond favorablement à ce traitement [Uzal 2004, Van Metre *et al.* 2000].

L'infusion intra-duodénale de *C. perfringens* type D chez des chevreaux âgés de 6 semaines, induit une distension abdominale et des diarrhées dans 50% des cas, un décubitus, léthargie et un coma dans 50% des cas sans autre signe clinique. [Blackwell *et al.* 1991]

Le diagnostic différentiel porte sur les affections gastro-intestinales : acidose ruminale, parasitisme gastro-intestinal, paratuberculose, coccidiose, salmonellose et intoxication pour les adultes. Pour les chevreaux, la maladie doit être différenciée des autres causes de diarrhées néonatales, de septicémie et de l'entérotoxémie de type C [Van Metre *et al.* 2000, Uzal 2004]. Les examens complémentaires nécessaires sont d'abord la coprologie pour des recherches bactériologiques ou la mise en évidence des parasites ou de leurs œufs. Des tests de résistance aux antiparasitaires peuvent être mis en œuvre si l'animal avait reçu préalablement un traitement anthelminthique. Une prise de sang en vue d'effectuer une sérologie, peut être également nécessaire si une paratuberculose est suspectée. Un examen biochimique et hématologique sont aussi recommandés (parasitisme) [Mitchell 1999].

### **FORME CHRONIQUE**

Cette forme est beaucoup plus rare que les précédentes. L'évolution se fait sur plusieurs semaines ou plusieurs mois. Les symptômes sont frustrés et la maladie est difficile à diagnostiquer. Les signes d'appel sont : amaigrissement, diarrhées intermittentes et chute de production voire agalactie totale. La chèvre est faible et déprimée. L'animal peut guérir mais l'issue est le plus souvent fatale [Van Metre *et al.* 2000].

**Tableau VII : Etude clinique de l'entérotoxémie type D chez les ovins et les caprins. Fréquence relative des symptômes décrits dans la bibliographie [Blackwell et al. 1991, Chartier 2002, Clark 2003, Popoff 1994, Uzal 2004, Van Metre et al. 2000].**

Symptômes décrits dans la bibliographie	Fréquence chez les caprins	Fréquence chez les ovins
Mort subite		
➤ <b>En quelques heures</b>	++	++
➤ <b>En 2-4 jours</b>	+++	-
➤ <b>Chronicité</b>	+	-
Symptômes digestifs		
➤ <b>Distension abdominale</b>	++	-
➤ <b>Ramollissement des selles</b>	+	+
➤ <b>Diarrhée profuse fibrino-hémorragique</b>	+++	-/+
➤ <b>Douleur, bêlements plaintifs</b>	++	-
Symptômes nerveux		
➤ <b>Ataxie</b>	-	+
➤ <b>Léthargie, coma, décubitus latéral</b>	+	++
➤ <b>Opisthotonos</b>	-/+	++
➤ <b>Pédalage en fin d'évolution</b>	+	++

++ Fréquent  
+ Assez Fréquent  
-/+ Variable  
- Non décrit

#### ENTÉROTOXÉMIE À *C. PERFRINGENS* E

Entérotoxémie catégorie 4 [Popoff 1989].

C'est une forme extrêmement peu fréquente de la maladie, qui sévit chez l'agneau. Très rarement observée, on ne dispose que de quelques données, peu précises. Le tableau clinique est classique : mort subite, accompagnée d'une diarrhée profuse [Ferrer *et al.* 2002, Songer 1998].

#### ENTÉROTOXÉMIE À *C. SORDELLII*

*C. sordellii* atteint les ovins et les caprins de tout âge, les agneaux sont plus fréquemment touchés [Popoff 1989]. Cependant il est rarement isolé, et peu de cas sont décrits. Par ailleurs, sa pathogénicité est contestée car les souches isolées chez des animaux entérotoxémiques ne semblent pas être virulentes (*cf.* I.2.2.3. Rôle dans la pathogénie).

Il serait responsable de mort subite. Les signes cliniques rapportés sont principalement des signes digestifs d'entérite et d'abomasite, et des signes de toxémie.

Le diagnostic différentiel chez le nouveau-né est surtout à établir avec la septicémie à *Manheimia haemolytica*.

Chez les animaux plus âgés, l'affection doit être distinguée d'une salmonellose à *Salmonella* Thyphimurium, d'une listériose à *Listeria monocytogenes*, et d'autres clostridioses [Popoff 1994, Songer 1998].

#### ENTÉROTOXÉMIE À *C. SEPTICUM*

Synonyme : Braxy, Bradsot, œdème malin

Cette affection est rare et principalement décrite dans les pays anglo-saxons. Elle s'observe essentiellement chez les ovins entre 6 et 18 mois, mais peut également atteindre les caprins. Les saisons de prédilection sont l'automne et l'hiver, car les animaux sont parfois contraints d'ingérer de l'herbe gelée.

Cette maladie se traduit par une mort subite. Dans les cas les moins sévères, les animaux malades sont anorexiques et très abattus. Les signes cliniques rapportés sont des douleurs abdominales, de l'incoordination motrice et faiblesse musculaire. La température rectale atteint 41-42°C. Un ballonnement abdominal est parfois observé [Popoff 1994].

L'entérotaxémie provoque une mort subite chez les ovins et les caprins. Dans le cas des formes les plus foudroyantes, l'animal meurt en quelques heures seulement. L'entérotaxémie ovine présente une plus forte variabilité clinique, qui dépend de l'agent étiologique en cause: syndrome hémolytique dans le cas de la maladie de l'agneau jaune, simple entérite foudroyante dans le cas d'une infection à *C. perfringens* type C ou troubles nerveux dans le cas d'une entérotaxémie de type D. Au contraire, la forme caprine se manifeste principalement par des signes digestifs, quel que soit l'agent étiologique ou l'âge de l'animal atteint.

L'entérotaxémie de type D est la plus décrite. Deux catégories de symptômes dominent le tableau clinique. Les symptômes digestifs (diarrhée hémorragique, distension abdominale, douleurs) sont présents à la fois chez les ovins et les caprins avec une plus grande fréquence chez les chèvres, qui parfois ne manifestent aucun autre symptôme. Les symptômes nerveux

(ataxie, pédalage, opisthotonos, coma) sont également observés dans les 2 espèces mais dominant le tableau clinique de l'entérotoxémie ovine. Dans l'espèce caprine, on considère que les quelques signes nerveux observés sont dus à l'anoxie cérébrale. Par ailleurs, les caprins peuvent développer une forme chronique, tandis que les ovins sont touchés exclusivement par des formes aiguës.

## LÉSIONS

En raison de l'évolution rapide et souvent mortelle de la maladie, l'étude nécropsique est une aide diagnostique importante, d'une part par l'observation des lésions et d'autre part par les prélèvements qu'elle permet. L'autopsie est un examen courant, facilité par l'évolution rapide et mortelle de la maladie.

Le tropisme de *C. perfringens* et de ses toxines est large. De nombreux organes sont affectés, tant chez les caprins que chez les ovins.

### ETUDE MACROSCOPIQUE

#### **Entérotoxémie de type A, maladie de l'agneau jaune**

L'agneau est ictérique : muqueuses et séreuses jaunes. L'ensemble des organes est teinté de jaune. Le foie est hypertrophié, pâle et friable. La rate est hypertrophiée et oedématiée. Les reins sont légèrement inflammés: hypertrophiés et coloration rouge marron [Ferrer *et al.* 2002]. Un calque de la muqueuse intestinale sur cadavre frais révèle de très nombreuses bactéries GRAM positif [Van Metre *et al.* 2000].

L'entérotoxémie de type A du chevreau présente des lésions en relation avec un tableau clinique très différent de celui de la « maladie de l'agneau jaune ». La carcasse témoigne d'un bon état général, sans lésions externe et le rectum contient des fèces moulées. Un épanchement séro-hémorragique (500mL) remplit la cavité abdominale. Les anses intestinales sont congestionnées, et la partie proximale semble moins lésée que la partie distale. Les noeuds lymphatiques mésentériques sont hypertrophiés [Dray 2004].

Les formes ovine et caprine chez l'adulte ne sont pas décrites.

### **Entérotoxémie de type B**

La muqueuse intestinale est particulièrement délabrée : congestion, hémorragie, ulcères nécrotiques. Les lésions systémiques liées à la toxine  $\epsilon$  sont identiques à celles rencontrées dans les autres entérotoxémies [Popoff 1994]. Ces lésions d'entérite hémorragique se rencontrent chez les ovins et les caprins [Songer 1998].

### **Entérotoxémie de type C**

La carcasse est souillée par les traces de diarrhée blanchâtre ou sanguinolente s'étendant jusqu'aux jarrets. La carcasse est congestionnée et on observe des épanchements séro-hémorragiques dans les cavités péritonéale, pleurale, et péricardique.

Le tableau lésionnel est dominé par une entérite hémorragique sévère, et parfois des ulcérations, localisées au jéjunum et à l'iléon. L'ensemble de l'intestin grêle peut être concerné. La caillette présente parfois des traces de sang digéré. Le contenu intestinal d'abord couleur masctic, révèle ensuite la présence de sang, de nombreux débris de muqueuse et des placards de fibrine.

Un rein pulpeux peut être observé [Ferrer *et al.* 2002, Popoff 1994, Van Metre *et al.* 2000].

### **Entérotoxémie de type D (Tableau VIII)**

Les animaux présentant peu de signes cliniques sont en général dépourvus de lésions macroscopiques [Uzal 2004, Uzal et Kelly<sup>1</sup> 1998, Van Metre *et al.* 2000].

#### **1) FORME OVINE [BLACKWELL ET AL. 1991, FERRER ET AL. 2002, POPOFF 1994, UZAL 2004]**

La carcasse est gonflée si l'autopsie n'est pas immédiate. L'état d'embonpoint est bon, la carcasse présente souvent des réserves adipeuses importantes. La carcasse est marquée par une congestion généralisée. Des pétéchies et des ecchymoses recouvrent les séreuses.

Les cavités de l'organisme sont remplies d'un liquide d'épanchement séreux ou séro-hémorragique, parfois gélatineux à cause de la fibrine. L'épanchement péricardique est un signe indicateur d'entérotoxémie. Il est de couleur jaune paille et coagule à l'air libre.

Les organes thoraciques et abdominaux sont congestionnés :

### ***Cœur***

Des pétéchies voire une hémorragie peuvent être mises en évidence au niveau de l'endocarde et du myocarde. Un épanchement péricardique est souvent constaté, avec des flocculats d'albumine.

### ***Poumon***

L'œdème pulmonaire sévère est un signe fréquent. Les poumons sont rouges, mouillés, lourds et collabés. Le septum interlobaire est rempli de liquide.

### ***Nœuds lymphatiques***

Ils sont hypertrophiés, en particulier les nœuds lymphatiques mésentériques.

### ***Tractus digestif***

Il est le plus souvent intact. Le rumen est plein et peut témoigner d'une alimentation riche, ou déséquilibrée. Le contenu abomasal, iléal et colique, la paroi est parfois hyperhémiee.

Le jéjunum est le segment le plus lésé (figures 5 et 6). On y observe une entérite hémorragique et le contenu est sanguinolent.



**Figure 5 : Entérotoxémie ovine. Jéjunum hémorragique [C. Manteca CEVA SA].**



**Figure 6 : Entérotoxémie ovine. Entérite hémorragique [C. Manteca CEVA SA].**

➤ **Foie**

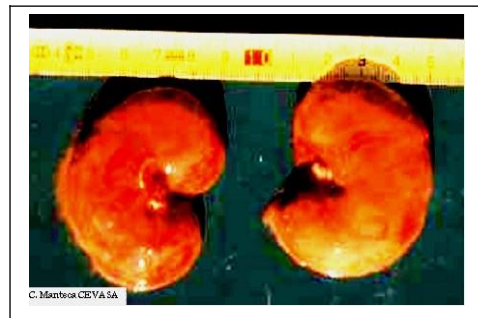
La vésicule biliaire peut être dilatée à cause de la rétention biliaire provoquée par l'iléus paralytique. On observe parfois une hépatomégalie, une congestion sévère ou des lésions hémorragiques (figure 7).



**Figure 7 : Entérotoxémie ovine. Congestion hépatique [C. Manteca CEVA SA].**

➤ **Rein**

Il subit une dégénérescence *post mortem* particulière (figure 8). L'autolyse rapide est un bon indicateur de la présence de clostridies. Le rein se colore en rouge foncé presque noir et risque de se désagréger au moindre contact : il est pulpeux, d'où l'appellation « maladie du rein pulpeux ».



**Figure 8 : Entérotoxémie ovine. Reins pulpeux [C. Manteca CEVA SA].**

Ce paramètre est très significatif d'entérotoxémie type D chez les ovins et constitue une aide diagnostique précieuse. Deux bémols nuancent cette interprétation : les animaux morts depuis plusieurs heures sont déjà fortement autolysés, il s'agit de ne pas confondre le rein pulpeux avec une autolyse normale ; ce critère n'est pas pathognomonique.

### ➤ *Encéphale*

La plupart des lésions cérébrales ne sont pas visibles macroscopiquement. Un œdème et des plages de nécrose symétriques et bilatérales sont éventuellement visibles.

### **FORME CAPRINE [UZAL 2004, UZAL ET AL. 2004, UZAL ET KELLY<sup>1</sup> 1998]**

L'animal présente également un bon état corporel sauf en cas de forme chronique, où l'animal est amaigri.

La carcasse révèle parfois une absence totale de lésions, ou des lésions localisées uniquement au gros intestin.

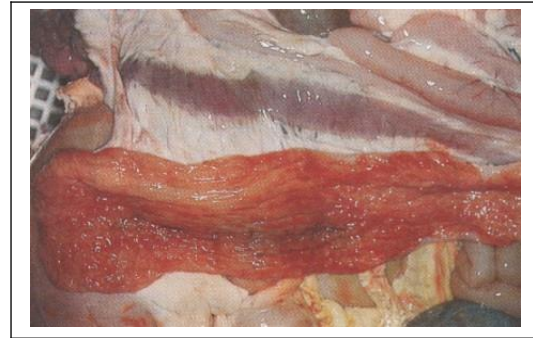
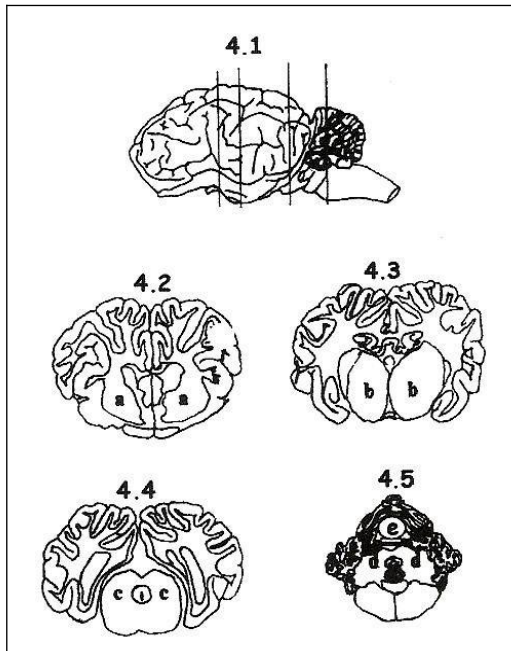
### *Tractus digestif*

Les lésions digestives sont prédominantes (figures 9, 10 et 11). La caillette et l'intestin grêle sont rarement atteints. S'ils le sont la muqueuse est congestionnée et hémorragique et la lumière intestinale est encombrée de fibrine. Le tableau nécropsique est dominé par une colite et une typhlite fibrino-hémorragiques, accompagnées d'un œdème du mésentère adjacent.

La séreuse est fortement œdématisée, congestionnée et hyperhémie. Des portions de la muqueuse sont nécrosées ou ulcérées et recouvertes de pseudo-membranes blanches. La lumière du tractus digestif contient des débris de muqueuse, du sang et de la fibrine.



**Figure 9 : Entérotoxémie caprine. Entérite et colite hémorragique [AFSSA Niort].**



**Figure 11 : Entérotoxémie caprine.  
Inflammation du caecum [AFSSA Niort].**

➤ **Encéphale**

Lorsqu'un prélèvement d'encéphale est pratiqué, on observe rarement des lésions macroscopiques cérébrales chez les caprins, contrairement aux ovins.

➤ **Autres organes**

De la même manière que chez les ovins, d'autres organes sont congestionnés et oedématiés. L'oedème pulmonaire est une lésion également courante.

Le rein pulpeux n'est pas caractéristique et est moins significatif que chez les ovins. Le rein pulpeux n'apparaît pas si l'autopsie a lieu immédiatement après la mort.

Les lésions provoquées par *C. perfringens* type D chez les ovins et les caprins sont en accord avec les principaux symptômes qui dominent le tableau clinique d'entérotaxémie dans chacune de ces espèces. La principale différence est le degré de lésion du tractus gastro-intestinal. Les caprins présentent des lésions essentiellement et parfois exclusivement abdominales et digestives, avec une prédominance dans les parties distales de l'intestin. Les ovins présentent plutôt des altérations généralisées liées à la toxémie et les lésions digestives ne sont pas systématiques.

Une autopsie précise permet d'orienter sérieusement le diagnostic et suffit souvent en pratique.

Tableau VIII : Grille des lésions nécropsiques d'entérotoxémie type D [Blackwell et al. 1991, Ferrer et al. 2002, Popoff 1994, Uzal et Kelly<sup>1</sup> 1998, Uzal 2004]

Lésions décrites dans la bibliographie	Fréquence chez les Caprins	Fréquence chez les Ovins
<b>Etat corporel :</b> Bon, présence de réserves adipeuses	-/+ /+++	++
<b>Séreuses :</b> Pétéchies, congestion	+	++
<b>THORAX</b>		
<b>Cavité thoracique :</b> Epanchement séreux ou séro-hémorragique	-/+	++
<b>Cœur :</b> Epanchement péricardique Pétéchies et hémorragie du myocarde et endocarde	-/+	+
<b>Poumon :</b> Œdème sévère	++	++
<b>ABDOMEN</b>		
<b>Cavité abdominale :</b> Epanchement séreux à séro-hémorragique	-/+ /+++	++
<b>Foie :</b> Hypertrophie, œdème	-/+	+
<b>Rate :</b> Hypertrophie, œdème	-/+	+
<b>Nœuds lymphatiques :</b> Hypertrophie, œdème	-/+	+
<b>Intestin grêle :</b> Iléite, muqueuse hémorragique, lumière intestinale remplie de fibrine	-/+ /+++	+
<b>Caecum :</b> Typhlite	+ /+++	-
<b>Colon :</b> Colite fibrino-hémorragique : muqueuse hémorragique, présence de pseudo membranes blanches, débris de muqueuses et de fibrine dans la lumière colique	++ /+++	-
<b>Rein :</b> Pulpeux : fortement autolysé, couleur foncée et consistance gélatineuse	- /+	+ /+++
<b>Urines :</b> Présence de glucose	- /+	+ /+++

+++ Très fréquent

++ Fréquent

+ Possible

- Absent ou non décrit

### **Entérotoxémie à *C. sordellii* [Lewis et Naylor 1998]**

Le tableau nécropsique de l'entérotoxémie à *C. sordellii* est varié, surtout chez les adultes. La bibliographie ne détaille pas d'autopsie réalisée sur l'espèce caprine.

#### ➤ ***Agneaux de 3-10 semaines***

Un œdème sous cutané peut être observé. La cavité abdominale subit une dilatation modérée, les organes viscéraux et les muscles sont colorés du rose pâle voire blanc au rouge vif (congestion sévère). Les nœuds lymphatiques abdominaux sont hypertrophiés et parfois hémorragiques. Les vaisseaux sanguins sont congestionnés. Aucun épanchement n'est pourtant observé. L'abomasum est l'organe le plus touché : il est dilaté et déplacé distalement au processus xiphoïde. La séreuse est gris clair, et présente des lésions d'œdème ou d'emphysème. La muqueuse est fortement congestionnée, surtout au niveau des replis pariétaux.

Les reins présentent quelques signes d'autolyse.

La cavité thoracique, l'œsophage et la bouche sont intacts.

#### ➤ ***Agneaux de 4-6 mois***

A cet âge, les lésions liées à la toxémie prédominent : congestion et hémorragie des muscles, nœuds lymphatiques, vaisseaux sanguins. Quelques cas d'œdème sous cutané sont décrits.

La cavité abdominale est remplie d'un liquide d'épanchement séro-hémorragique. Les reins subissent une autolyse précoce et le foie est hypertrophié. L'abomasum reste en position normale, mais la muqueuse est fortement congestionnée et ulcérée. Les autres segments du tractus digestif sont normaux, avec parfois une météorisation du caecum ou quelques hémorragies de la muqueuse.

La cavité thoracique présente dans la moitié des cas des pétéchies et hémorragies principalement sur le thymus et le péricarde.

#### ➤ ***Adulte***

Le tableau lésionnel est varié. On observe une autolyse précoce des carcasses. Certaines présentent une forte inflammation : congestion intense généralisée, œdème sous cutané, péritonite avec épanchement abdominal d'environ 1- 2L de liquide fibrino-hémorragique. La caillette est ulcérée sur la grande courbure, mais l'abomasite n'est pas systématique. Quelques

portions intestinales peuvent être congestionnées : jéjunum distal, iléon proximal. Le caecum est parfois tympanique. Le rein subit une autolyse précoce.

### Entérotoxémie à *C. septicum*

L'autopsie des ovins révèle une inflammation aigue de la caillette. La muqueuse et la sous muqueuse abomasales sont oedématisées et hémorragiques. Des ulcérations sont parfois décelées. Les anses intestinales sont souvent distendues par les gaz. Des épanchements séreux sont parfois visibles dans les cavités abdominales, thoraciques et péricardiques. Les séreuses (mésentère, épicarde, endocarde, plèvres...) présentent des pétéchies. [Popoff 1994]

Le nombre de cas extrêmement faible d'entérotoxémie à *C. septicum* chez les caprins explique pourquoi peu de publications ont été faites à ce sujet. La bibliographie ne détaille pas les lésions observées lors des autopsies.

Bien que les entérotoxémies dues à *C. sordellii* et *C. septicum* soient observées à la fois chez les ovins et les caprins, les lésions rapportées lors d'examen nécropsique ne concernent que les ovins. Les lésions sont majoritairement digestives.

Les entérotoxémies dues à *C. perfringens* sont davantage décrites. Chez le jeune, les formes digestives prédominent. Mais chez l'adulte, la localisation des lésions varie selon l'espèce: les ovins présentent majoritairement des lésions généralisées concernant de nombreux organes, alors que les caprins ne présentent que des lésions localisées, principalement digestives. Les ovins arborent également des lésions au niveau de l'encéphale. Cette disparité lésionnelle est le reflet de l'expression clinique de la maladie.

### ETUDE HISTOLOGIQUE

L'étude histologique complète le tableau nécrosique. Non seulement elle précise la nature des lésions visibles à l'œil nu au cours de l'autopsie, mais elle permet aussi de mettre en évidence des altérations cellulaires au niveau de l'encéphale [Uzal 2004, Uzal *et al.* 1997, Uzal *et al.* 2004]. Comme précédemment, la majorité des études porte sur les lésions dues à la toxine ε.

#### ➤ *Poumons*

Sur les poumons les plus atteints, on observe un œdème généralisé à la fois chez les ovins et les caprins. L'œdème est interstitiel, pleural, périvasculaire, péribronchique, septal et alvéolaire. Ces lésions donnent une coloration légèrement éosinophile. La lumière alvéolaire est remplie de petites protéines [Blackwell *et al.* 1991, Shoenian 2005].

➤ **Foie**

La section du foie chez l'agneau révèle une légère congestion, avec une teneur en glycogène variable. La vacuolisation des hépatocytes reste normale. Chez le chevreau, l'étude histologique du foie est normale [Blackwell *et al.* 1991].

➤ **Intestin grêle**

Les lésions sont rares chez les ovins. Une congestion de la muqueuse de degré variable est observée ainsi qu'un nombre modéré de bacilles GRAM + dans la lumière intestinale [Uzal *et al.* 2004].

Chez les caprins l'iléon est particulièrement lésé. L'épithélium superficiel se desquame, les villosités sont congestionnées, atrophiées ou nécrosées. On observe une nécrose aiguë des entérocytes. La *lamina propria* présente une congestion superficielle et est infiltrée par les polynucléaires neutrophiles. Une cytolysse lymphocytaire des plaques de Peyer peut être observée [Blackwell *et al.* 1991].

➤ **Gros intestin**

Les ovins, en particulier les agneaux, ne présentent pas de lésions coliques.

Les lésions du colon sont très fréquentes dans l'espèce caprine. Si la colite est peu intense, on ne décèle qu'une faible congestion de la muqueuse et quelques cellules épithéliales desquamantes. Des bactéries de la morphologie de *Clostridium* peuvent être mises en évidence dans la lumière et des cellules basophiles au noyau pycnotique sur la muqueuse absorbante. En cas de lésions macroscopiques importantes, la couche épithéliale est entièrement nécrosée, la paroi muqueuse est hémorragique et tapissée de pseudo membranes. Le contour de cellules épithéliales forme un liseré basophile. La lumière colique est remplie de débris muqueux, de fibrine et de cellules inflammatoires neutrophiles. Les couches sous muqueuse, musculaire, *lamina propria* et séreuse présentent des lésions d'œdème. Les nombreux débris cellulaires éosinophiles et basophiles dans la lumière intestinale sont des débris de mucine et de fibrine [Blackwell *et al.* 1991].

➤ **Rein**

Aucune modification histologique n'est visible si l'autopsie est réalisée immédiatement après la mort. Les lésions caractéristiques du « rein pulpeux » résultent de l'autolyse accélérée des tissus par la toxine  $\epsilon$ . Il s'agit donc d'un phénomène post-mortem. Cependant, pour conforter cette hypothèse, il serait intéressant de comparer la cinétique d'autolyse des organes sur des animaux atteints d'entérotoxémie et des animaux sains. Tant qu'elle n'aura pas été étudiée, l'histologie du rein ne peut constituer une preuve diagnostique [Uzal 2004].

L'examen histologique du rein chez l'agneau et chez le chevreau est normal, s'il a lieu immédiatement après la mort. L'agneau peut toutefois présenter des hémorragies multifocales corticales [Blackwell *et al.* 1991, Uzal *et al.* 2004]. Dans le cas d'un examen quelques heures après la mort, on observe une autolyse cellulaire des tubules proximaux et distaux chez les ovins [Uzal *et al.* 2004].

#### ➤ *Vaisseaux sanguins*

On observe un œdème périvasculaire, acidophile et homogène sur l'ensemble du réseau artériel. Ces lésions sont visibles chez les ovins et les caprins.

#### ➤ *Vaisseaux lymphatiques*

Ils sont engorgés d'un liquide acidophile, riche en cellules inflammatoires et observable chez les ovins et les caprins.

#### ➤ *Encéphale*

Peu de lésions sont observables chez la chèvre. L'injection de toxine  $\epsilon$  chez le chevreau provoque une symptomatologie nerveuse, mais aucune lésion cérébrale n'apparaît. Le chevreau peut tolérer les mêmes doses de toxine  $\epsilon$  que l'agneau sans développer aucune lésion céphalique. Les symptômes nerveux tels que les convulsions et le pédalage sont probablement dus à l'hypoxie induite par l'œdème pulmonaire et non aux effets de la toxine  $\epsilon$  sur l'encéphale [Shoenian 2005]. Dans les formes suraiguës et aiguës, on peut toutefois observer un œdème homogène acidophile périvasculaire (surtout les artères) de la capsule interne et des *coliculi* ainsi qu'une dégénérescence de la substance blanche. Les lésions sont symétriques et bilatérales [Uzal *et al.* 1997, Uzal et Kelly<sup>1</sup> 1998].

Chez les ovins, les lésions apparaissent quelques heures après les premiers symptômes. L'encéphale est marqué par un œdème périvasculaire, la présence de plages acidophiles en périphérie des artérioles et des veinules, une dégénérescence et nécrose de la matière blanche, un gonflement des astrocytes et des axones, et une vacuolisation des cellules gliales. La

localisation des foyers d'encéphalomalacie est symétrique et bilatérale (figure 12). Ces lésions se situent sur la capsule interne, le thalamus, les pédoncules cérébelleux et le *cerebellum*. La sévérité des lésions est directement liée à la quantité de toxine présente dans le milieu [Shoenian 2005, Uzal *et al.* 1997, Uzal *et al.* 2004].

**Figure 12 : Schéma montrant la distribution des lésions de l'encéphale d'un animal ayant subi une infection intra-duodéale par *Clostridium perfringens* type D. [Uzal *et al.* 2004]**

**1 : lignes de coupe qui permettent d'obtenir les sections ci-après**

**2-5 : respectivement**

**a : capsule interne**

**b : thalamus**

**c : tronc de l'encéphale**

**d : pédoncule cérébelleux**

**e : cervelet**

Les lésions de l'encéphale constituent une aide diagnostique précieuse car il semblerait qu'elles soient caractéristiques de l'infection à *C. perfringens* type D. Elles sont constantes chez les ovins, mais très variables chez les caprins. L'inconstance de ces lésions diminue leur utilité diagnostique chez la chèvre.

D'autres auteurs assurent au contraire que les septicémies à bactéries GRAM négatif peuvent induire également des nécroses cérébrales similaires, virtuellement indiscernables de celles induites lors d'entérotoxémie [Songer 1998].

L'examen histologique des lésions dues à *Clostridium perfringens* type D révèle des différences entre les ovins et les caprins, qui s'articulent autour de 2 principaux organes : le tractus digestif et l'encéphale. Les chèvres sont marquées par la nécrose des cellules épithéliales intestinales, principalement coliques, avec une forte infiltration de cellules inflammatoires. Les ovins présentent au contraire très peu d'altérations digestives, mais une dégénérescence des cellules céphaliques, avec des foyers d'encéphalomalacie symétriques et bilatérales très caractéristiques de l'infection. Ce dernier critère a une importance diagnostique certaine chez les ovins.

## DIAGNOSTIC

Le diagnostic de laboratoire est indispensable pour confirmer une suspicion clinique d'entérotoxémie et établir un diagnostic définitif.

### PRÉLÈVEMENTS

Les prélèvements doivent permettre la recherche des toxines et/ou la mise en évidence des bactéries. La recherche de toxine s'effectue sur contenu digestif, les liquides d'épanchement, le sang et les organes cibles. La recherche de bactéries se fait préférentiellement sur contenu digestif.

#### **Tractus et contenu digestif**

Le prélèvement est effectué dans les heures qui suivent la mort, soit 6 heures *post mortem* pour une recherche de toxine, soit 3 heures *post mortem* pour un diagnostic bactériologique. Mais ces délais sont difficilement réalisables en élevage [Daube 1992, Philippeau *et al.* 2003]. En effet, la labilité des toxines dans le contenu intestinal oblige à effectuer les prélèvements sur cadavre frais, et éventuellement à les réfrigérer en attendant l'analyse. Un prélèvement tardif accroît donc les risques de résultats « faux négatifs » [Philippeau *et al.* 2003]. Par ailleurs, l'anaérobiose *post mortem* est une condition favorable à la multiplication et la diffusion des clostridies dans l'organisme, tant chez l'animal mort d'entérotoxémie que chez l'animal sain. La cinétique de croissance bactérienne dans le contenu intestinal après la mort reste à étudier chez les petits ruminants. Un prélèvement trop tardif ne permet plus de différencier sur la base du dénombrement bactérien, un animal entérotoxémique d'un animal sain ou mort d'une autre cause [Philippeau *et al.* 2003].

Le segment digestif à prélever varie selon l'espèce. Chez les ovins il est intéressant de prélever au niveau de l'intestin grêle, tandis que chez les caprins, les segments lésés sont davantage situés en aval : caecum et colon.

Deux techniques sont possibles pour le prélèvement du contenu digestif, mais dans tous les cas l'anaérobiose doit être maintenue. La première technique préconise de remplir des flacons stériles à ras bord avec le simple contenu digestif et de les fermer hermétiquement [Philippeau *et al.* 2003]. Dans la seconde, des portions de tractus digestif d'environ 15 cm sont prélevées

et ligaturées de manière à préserver l'anaérobiose [Van Metre *et al.* 2000]. Dans ce cas, le dénombrement bactérien risque d'être sous estimé, donc peu fiable [Latour 2004].

Les prélèvements sont effectués rapidement à cause de la croissance bactérienne et de la labilité des toxines. La concentration de la toxine  $\epsilon$  chute de 90% en 24 heures dans le tractus digestif de l'animal mort [Blackwell *et al.* 1991]. Les prélèvements sont envoyés au laboratoire d'analyse, avec un délai de conservation maximal de 24 heures à 4°C. La congélation est proscrite car non supportée par les clostridies [Philippeau *et al.* 2003]. L'addition de conservateurs comme le formol classiquement utilisé pour conserver les prélèvements en vue d'une étude histologique, est susceptible de compliquer l'interprétation des tests.

L'anaérobiose doit être conservée et l'emploi de conservateurs est également déconseillé.

### **Urine**

Les urines sont facile à prélever et constituent une précieuse aide diagnostique.

Sur un ovin vivant, une courte période d'asphyxie provoque l'émission d'urine. Pour cela, il suffit d'appliquer la main sur la bouche et le nez de l'animal. Cette manœuvre est sans danger, même sur un animal très abattu. Au cours d'une autopsie, le prélèvement d'urine est riche d'enseignement (*cf.* III.3.2.5.1). Cet acte quasi indispensable chez les ovins n'est pas forcément réaliser chez les caprins En effet, chez les ovins, la présence de glucose dans les urines est quasi constante, alors que dans l'espèce caprine, l'inconstance de la glucosurie rend se paramètre peu fiable. [Popoff 1979, Uzal 2004, Uzal *et al.* 2004].

### **Liquide péricardique**

Ce prélèvement est effectué au cours de l'examen nécropsique. Il semble davantage utile chez la chèvre que chez le mouton. La détection de glucose dans le liquide péricardique chez la chèvre morte d'entérotaxémie est relativement constante [Uzal 2004].

### **Tissus et autres sérosités**

Ce genre de prélèvement est réalisé plus souvent dans le domaine de la recherche et peu en pratique. L'objectif principal est la mise en évidence des bactéries, des toxines ou des lésions.

Les sérosités sont prélevées sur tube sec ou dans un pot stérile. La toxine  $\epsilon$  tolère une conservation longue, évaluée à 48 semaines à 4°C [Uzal 2004]. La congélation des prélèvements est possible (sauf en vue d'un examen bactériologique). Elle évite la labilité de la toxine  $\epsilon$ , mais elle mal tolérée par la toxine  $\beta$ . L'utilisation de conservateurs est déconseillée car elle complique l'interprétation des tests [Van Metre *et al.* 2000].

Des fragments d'organe peuvent être également destinés à l'examen histologique, on les conserve alors dans une solution de formol à 10% [Mariano et Uzal 2005]. Les organes concernés à la microscopie sont les organes cibles des toxines : encéphale surtout chez les ovins, paroi digestive surtout chez les caprins, le foie, les reins, la rate, les poumons et des éléments de l'appareil circulatoire. Les parties lésées sont prélevées pour la recherche et le dénombrement bactériologique

### **Sang**

La prise de sang est effectuée sur tube sec pour effectuer une recherche sérologique ou sur tube hépariné pour établir un profil biochimique (cf. III.3.2.5.3). Chez les petits ruminants, ce test est facultatif car pauvre en renseignement ou trop coûteux.

## **MÉTHODES DIAGNOSTIQUES**

### **Étude bactériologique**

L'identification et le dénombrement bactérien sont réalisables en routine dans les laboratoires, car faciles et peu coûteux. En règle générale, elle se fait sur contenu digestif, sang ou organes lésés. Elle est la méthode de choix en clientèle. La cinétique de croissance et le dénombrement bactérien, ont été davantage étudiés chez les ovins. En pratique, les caprins sont assimilés aux ovins pour l'interprétation de leurs résultats. La valeur diagnostique de l'identification et du dénombrement est variable selon l'espèce et le type de *Clostridium* [Uzal 2004, Uzal et Kelly 1996].

#### **1) IDENTIFICATION**

*Clostridium perfringens* est un hôte normal de l'intestin des ruminants avec des populations variables selon le type (A>D>B>C>E) [Uzal 2004].

L'interprétation de l'isolement d'une souche de *Clostridium* sur contenu digestif, varie selon les publications. Le désaccord entre les différents auteurs repose sur la présence de *C. perfringens* dans l'intestin des animaux sains. Le simple isolement de la bactérie chez un animal malade n'a donc pas de valeur diagnostique [Uzal 2004]. Cependant, la probabilité d'isoler *Clostridium* chez l'animal sain change en fonction du type de *Clostridium* considéré et de son hôte. Pour certains auteurs, *C. perfringens* type A a une croissance tellement rapide sur culture anaérobie qu'elle peut cacher la présence éventuelle d'autres pathogènes. Une culture positive pour ce germe, peut rendre le diagnostic plus difficile (Tableau IX) [Van Metre *et al.* 2000].

### ***Chez l'adulte***

La plupart des auteurs s'accorde à penser que l'isolement de *Clostridium perfringens* types A et D chez les ovins n'est en aucun cas témoin de clostridiose, puisqu'ils sont naturellement présents dans le tube digestif [Uzal 2004]. Une enquête effectuée chez les caprins, indique que seulement 61% des chèvres saines hébergent des clostridies dans leur intestin et que 3% uniquement hébergent *Clostridium perfringens* type D. L'isolement de cette bactérie sur une chèvre suspecte d'entérotaxémie serait un indicateur très important. Un résultat négatif ne permet pourtant pas d'exclure une infection à *Clostridium perfringens* type D [Uzal 2004].

Bien que *Clostridium perfringens* types B et C aient été isolés récemment sur des moutons sains, certains auteurs croient en la valeur diagnostique de leur isolement. Ils ont également été isolés sur des chèvres saines [Uzal 2004].

### ***Chez le jeune***

Chez l'agneau et le chevreau, l'identification de *C. perfringens* types B et C a une valeur diagnostique forte.

D'une manière générale, *C. sordellii* et *C. septicum* sont considérés comme étant absents chez l'animal sain, leur mise en évidence a une valeur diagnostique forte [Shoenian 2005, Songer 1998].

La présence de l'espèce et du type de *Clostridium* dans l'intestin des animaux sains conditionne la valeur diagnostique de l'identification des bactéries dans le tractus digestif.



Tableau IX : Présence et valeur diagnostique de *Clostridium* dans l'intestin des petits ruminants [Latour 2004, Rood 1998, Shoenian 2005, Songer 1998, Uzal 2004].

Type de <i>Clostridium</i>	Présence chez l'animal sain	Valeur diagnostique chez les caprins	Valeur diagnostique chez les ovins
<i>C. perfringens</i> type A	Oui	Aucune	Chez l'agneau uniquement
<i>C. perfringens</i> type B	Rare	Oui	Oui
<i>C. perfringens</i> type C	Rare	Oui	Oui
<i>C. perfringens</i> type D	Possible	Oui	Non
<i>C. sordellii</i>	Non	Oui	Oui
<i>C. septicum</i>	Non	Oui	Oui

L'identification simple de *C. perfringens* dans l'intestin d'animaux morts d'entérotoxémie ne suffit pas. Le dénombrement est nécessaire dans la majorité des cas.

#### 0) DÉNOMBREMENT

La cinétique de croissance des bactéries après la mort, serait un indicateur important pour le diagnostic. Mais là encore, l'interprétation du dénombrement dépend du type de *Clostridium* considéré.

Au moment de la mort, les fractions bactériennes augmentent. Il n'y a pas de différence significative d'augmentation relative des coliformes et des entérocoques en fonction de l'origine de la mort (entérotoxémie ou autre). En revanche, l'augmentation des sulfito-réducteurs (principalement les clostridies) permet d'orienter le diagnostic. Avec un cycle de 10 minutes, une bactérie *C. perfringens* type A initiale peut se multiplier pour atteindre la valeur significative de  $10^7$  UFC/mL dans l'intestin grêle dans les 6 premières heures. [Latour 2004, Philippeau *et al.* 2003] La concentration de *C. perfringens* augmente lentement dans la caillette et le caecum des ruminants [Philippeau *et al.* 2003].

Il existe 2 seuils au-delà desquels il y a maladie. Si on dénombre plus de  $10^6$  UFC/mL sur un prélèvement issu d'un animal cliniquement suspect, on considère que l'animal était atteint d'entérotoxémie. Cette valeur est valable après une culture sur milieu TSN®. De plus, les conditions de prélèvement et de conservation suivantes sont indispensables : prélèvement effectué dans les heures qui suivent la mort et conservation en anaérobiose pendant 24h à 4°C.

Pour une culture sur gélose au sang, avec de la cyclosérine et en chambre anaérobie, la valeur seuil sera  $10^8$  UFC/mL. De même, hors données épidémiologiques, on considère qu'il y a maladie si on dénombre plus de  $10^8$  UFC/mL chez les bovins [Latour 2004].

Les populations clostridiennes de types B et C subissent une augmentation moindre, plus ou moins similaire à celle d'animaux sains. Les informations concernant le nombre normal et les variations *post mortem* de clostridies chez les moutons et les chèvres sains sont quasi inexistantes [Uzal 2004].

L'identification et le dénombrement des clostridies sont des techniques de diagnostic dont l'interprétation est controversée. D'une manière générale, les résultats sont à étudier en parallèle de la situation épidémiologique, de la clinique et des lésions. Leur interprétation en dehors de tout contexte est impossible. De plus, plusieurs paramètres conditionnent les résultats comme le mode de culture et les conditions de prélèvement et de conservation.

L'identification de *Clostridium* dans l'intestin s'interprète de façon différente selon le type de *Clostridium* et son hôte. Chez le jeune, la mise en évidence de *C. perfringens* types B et C a une valeur diagnostique considérée comme étant fiable. Chez l'adulte, l'identification de *C. perfringens* type A n'a aucun intérêt diagnostique tant chez les ovins que chez les caprins. En revanche, *C. perfringens* type D étant rare chez les chèvres saines, son identification dans le tractus digestif est un bon indicateur d'entérotoxémie.

Des données comparatives concernant la cinétique de croissance bactérienne *post mortem* chez l'animal sain et l'animal mort d'entérotoxémie seraient intéressantes. Les chiffres actuellement disponibles sur le dénombrement bactérien dans le contenu intestinal sont issus d'études sur les bovins et plus rarement sur les petits ruminants. Dans ce contexte, une comparaison ovin/caprin est aujourd'hui impossible.

Bien que les avis divergent, cet examen reste fréquemment utilisé en pratique. Les laboratoires fournissent une interprétation basée sur des normes bovines.

### **Le typage**

Il existe plusieurs techniques de typage des souches de *Clostridium perfringens* à partir de contenu intestinal ou de sérosités. On recherche les toxines produites. Le typage permet une interprétation plus juste du dénombrement clostridien.

## 1) MOUSE NEUTRALISATION TEST (MNT)

Le test de neutralisation sur souris est la technique la plus ancienne mais aujourd'hui peu utilisée, sauf dans le cadre de la recherche.

Le principe est d'injecter à une souris des toxines et les anticorps présumés correspondants. La mort de l'animal signifie qu'on lui a injecté une toxine sans son anticorps neutralisant. On peut alors déduire le type de toxine responsable du décès.

Cette méthode est sensible et spécifique. Elle pose cependant un problème éthique [Latour 2004].

### ELISA SUR CONTENU INTESTINAL OU SUR SÉROSITÉ

#### *Définition : Enzyme Linked Immunosorbent Assay*

Technique de détection ou de dosage immuno-enzymatique où la réaction antigène-anticorps est révélée par l'action d'une enzyme (couplée à l'anticorps ou à l'antigène) sur un substrat chromogène [Dart 2005].

L'objectif est de mettre en évidence les antigènes de toxine. La sensibilité et la spécificité du test dépendent de l'anticorps utilisé et de la technique de marquage. De plus il est nécessaire de réaliser l'expérience pour chaque toxine séparément [Latour 2004, Uzal 2004].

#### *Toxine $\alpha$*

Le test ELISA dispose d'une très bonne sensibilité pour la toxine  $\alpha$ . Il permet donc de détecter des taux très faibles de toxine. Faute de définition d'un seuil approprié, il devient impossible de différencier un animal sain d'un animal malade. Le test MNT serait plus approprié car il est beaucoup moins sensible. Il ne détecte pas les faibles taux de toxine  $\alpha$  et ne fournit un résultat positif que sur les animaux malades uniquement [Uzal 2004].

#### *Toxine $\epsilon$*

Il a été démontré que de faibles taux de toxine  $\epsilon$  existaient chez les animaux sains. Dans ce cas, les tests conventionnels ne détectent *a priori* pas la toxine  $\epsilon$ . La sensibilité du test ELISA par capture polyclonale est estimée à 91%. Ce test obtient de meilleurs résultats sur contenu digestif que sur sérosités. Un résultat positif sur un animal cliniquement suspect est donc fortement indicateur d'une infection à *Clostridium perfringens* type D. En revanche, un résultat positif sur un animal asymptomatique ne peut être interprété, car le test ELISA peut

mettre en évidence des taux de toxines insuffisants pour provoquer la maladie. La spécificité du test est évaluée à 100%. Mais si le test est négatif, l'interprétation n'est encore pas évidente car la toxine  $\epsilon$  passe rapidement dans l'organisme en disparaissant du contenu intestinal [Uzal 2004, Uzal *et al.* 2003].

### ***Toxine $\beta$***

Cette toxine est rapidement détruite par la trypsine digestive. Elle n'est donc pas souvent recherchée. Un résultat positif sur un animal suspect d'entérotoxémie, permet de conclure au diagnostic de maladie à *C. perfringens* type C, ou à type B si la toxine  $\epsilon$  est également mise en évidence [Uzal 2004].

### **AGGLUTINATION SUR BILLES DE LATEX**

Cette technique qualitative est très ancienne et aujourd'hui peu utilisée. Les toxines adhèrent sur des anticorps anti-toxine présentés sur les billes de latex.

Ce test est réactualisé pour la détection de la toxine  $\epsilon$ . Sa sensibilité et sa spécificité étant inférieures à celles du test ELISA, les faibles taux de toxine  $\epsilon$  (animal sain) ne sont pas détectés, ce qui diminue le risque de faux positifs sur contenu digestif. De plus, il est facile à réaliser et peu coûteux [Leonhart 2004].

### **PCR (POLYMERASE CHAIN REACTION)**

La PCR est un test qualitatif, qui offre une sensibilité élevée. Tous les gènes présents, même les plus instables car localisés sur les plasmides (gène de la toxine  $\epsilon$ ), peuvent être détectés. De plus, la sporulation n'interfère pas, ce qui contribue à diminuer le nombre de faux négatifs.

En revanche, la spécificité du test est moins bonne, car il renseigne sur la présence d'un gène et non de la toxine elle-même. La détection d'un gène ne permet pas d'affirmer que la toxine qu'il code est responsable de la mort de l'animal.

Actuellement, cette technique est principalement utilisée avec les gènes *cpa*, *etx* et *cpb* codant respectivement pour les toxines  $\alpha$ ,  $\epsilon$  et  $\beta$  [Songer 1998].

Gène amplifié	Toxines recherchées	Type de <i>Clostridium perfringens</i>
<i>cpa</i>	$\alpha$	A, B, C, D, E
<i>cpb</i>	$\beta$	B et C

Chez les animaux sains, on détecte systématiquement le gène *cpa*, caractéristique de *C. perfringens*. Chez les animaux suspects d'entérotoxémie, on met le plus souvent en évidence les gènes *cpa* et *etx*, dont l'association est caractéristique de *C. perfringens* type D. Le gène *cpb* est rarement détecté chez les ovins et les caprins suspects d'entérotoxémie car soit *C. perfringens* type B et C sont peu courants dans ces espèces, soit ce gène est instable de par sa situation sur un plasmide. L'amplification des gènes *cpa* et *etx* chez les animaux sains est possible et témoigne d'un portage asymptomatique de *C. perfringens* type D ou d'un épisode d'entérotoxémie passé. Un dénombrement est alors nécessaire pour objectiver un réel cas de maladie [Manteca 2003].

Deux limites s'opposent à l'utilisation de cette technique. La première est son aspect uniquement qualitatif. Elle ne peut donc être pratiquée indépendamment d'un dénombrement de bactéries. La PCR quantitative reste du domaine de la recherche. Cette technique consiste à calculer la concentration initiale d'ADN recherché. Après avoir défini des valeurs seuil de quantité d'ADN en fonction du type recherché, elle permettrait de conclure au diagnostic d'entérotoxémie.

Par ailleurs, la PCR devient un sujet à controverse dans la mesure où la détection d'un gène ne signifie pas qu'il a été exprimé. L'amplification de gène de toxine ne permet donc pas d'affirmer que cette toxine était présente dans le prélèvement. Elle permet seulement de typer les clostridies dans le tractus digestif, sans pour autant confirmer leur rôle dans le processus pathologique [Miserez *et al.* 1998].

Cette méthode diagnostique est aujourd'hui privilégiée aux autres car la sensibilité et la spécificité sont bonnes, tout en restant relativement peu onéreuse. Sa rapidité de mise en œuvre permet l'analyse d'un plus grand nombre de colonies issues d'un même prélèvement. La technique PCR trouve davantage d'utilité chez les caprins, chez qui les symptômes et les lésions sont peu caractéristiques [Miserez *et al.* 1998].

### **L'identification directe par coloration des bactéries in situ**

Un calque et une coloration de GRAM de la muqueuse intestinale duodénale et colique révèlent une multitude de bâtonnets fins, courts et aux bords arrondis, souvent non sporulés, colorés GRAM positif. *C. perfringens* type D peut être isolé également au niveau des reins et de

l'encéphale. Sans être un diagnostic d'exclusion, la coloration GRAM conduit à conforter une suspicion clinique de clostridiose [Uzal 2004, Uzal et Kelly<sup>1</sup> 1998]. Le test sur la muqueuse intestinale est rapide, facile à mettre en place sur le terrain et reste un bon indicateur d'entérotoxémie chez les petits ruminants. La mise en évidence des bactéries ne confirme pas le diagnostic, elle renforce une suspicion.

### **Sérologie**

Chez les ovins, la majeure partie des signes cliniques et des lésions est attribuée à la toxine  $\epsilon$ . Chez les caprins, l'importance relative de chacune des toxines n'a pas encore été évaluée. *Clostridium perfringens* type D produit aussi la toxine  $\alpha$  et plusieurs toxines mineures. Il est possible que les lésions résultent d'un effet combiné de ces toxines.

En pratique, on recherche uniquement la présence des anticorps anti-toxine  $\epsilon$  dans le sang, via un test ELISA [Uzal et Kelly<sup>1</sup> 1998].

### **Etude des modifications due à l'intoxination**

#### **1) URINE**

Les urines sont analysées avec une bandelette réactive.

#### ***pH urinaire***

Chez les ovins, le pH urinaire physiologique se situe autour de 7-8. Dans plus de la moitié des cas avérés d'entérotoxémie, les urines sont acides, à condition que le prélèvement soit précoce après la mort. L'acidose, dont les facteurs de risque et la clinique peuvent être confondus avec ceux de l'entérotoxémie, provoque aussi une acidification des urines. Cette acidification est cependant plus franche et plus précoce que dans les cas d'entérotoxémie. Le pH urinaire est un indicateur important pour différencier une hypocalcémie et une forme comateuse d'entérotoxémie : dans le cas d'une hypocalcémie, les urines sont alcalines [Popoff 1979, Uzal 2004].

#### ***Cétonurie***

Elle est rarement présente en cas d'entérotoxémie, elle permet le diagnostic différentiel avec la toxémie de gestation, les cétooses et les maladies nerveuses liées à l'ensilage (listériose).

### ***Protéinurie***

Une augmentation modérée peut être mise en évidence, mais elle n'est systématique ni chez les ovins, ni chez les caprins.

### ***Glucosurie***

Elle renforce une suspicion clinique. Ce paramètre permet une orientation diagnostique sans en être une preuve absolue, car de nombreuses affections provoquent également une glucosurie : l'hypocalcémie, des troubles phosphocalciques, une alcalose consécutive à une alimentation riche en protéines, une insuffisance rénale, une urolithiase, une atteinte hépatique et musculaire, une infection, le stress... Les autres paramètres urinaires et surtout l'étude clinique, nécropsique et de laboratoire sont indispensables pour effectuer le diagnostic différentiel.

L'induction expérimentale d'une entérotoxémie de type D chez l'agneau, induit systématiquement une glucosurie [Blackwell *et al.* 1991]. La présence de glucose dans les urines est donc un indicateur important de la maladie, mais les avis divergent quant à sa valeur diagnostique. M. Popoff en 1979 a trouvé que parmi 47 cas autopsiés pour entérotoxémie, il y avait 100% de glucosurie positive. Il en a déduit qu'une absence de glucosurie permettait d'exclure avec certitude une suspicion de la maladie chez les ovins. Selon ce même auteur, une glucosurie massive sans aucun autre symptôme chez un agneau (ovin de moins de 6 mois), serait le signe d'une entérotoxémie à *C. perfringens*. Un ovin adulte présentant des troubles nerveux associés à une glucosurie massive avec un pH urinaire acide ou neutre serait atteint d'entérotoxémie [Popoff 1979]. Au contraire des études plus récentes montrent que ce paramètre est inconstant. FA. Uzal trouve que seulement 50% des ovins chez qui il a induit une entérotoxémie, ont une glucosurie positive. L'absence de glucose dans les urines n'est pas un argument suffisant pour exclure le diagnostic d'entérotoxémie [Uzal 2004].

Chez la chèvre, la glucosurie est un paramètre inconstant. Son absence n'est pas rare et sa mise en évidence doit être associée aux signes cliniques. Une valeur de glucose urinaire comprise entre 50 et 300 mg/dL, est fortement indicatrice d'entérotoxémie [Blackwell *et al.* 1991, Uzal 2004].

La glucosurie constitue donc une aide diagnostique importante chez les petits ruminants, surtout chez les ovins et de façon moindre chez les caprins. Ce paramètre renforce une suspicion clinique, mais n'est pas suffisant pour confirmer un diagnostic d'entérotoxémie.

Une entérotoxémie à *C. sordellii* ne provoque jamais de glucosurie. Si on suspecte cette bactérie comme responsable de la maladie, et qu'une glucosurie est détectée, c'est qu'il y a une affection concomitante. La recherche du glucose dans les urines est un élément important du diagnostic différentiel entre *C. sordellii* et *C. perfringens* [Popoff 1979, Uzal et Kelly<sup>1</sup> 1998, Uzal 2004].

### **LIQUIDE PÉRICARDIQUE**

La présence de glucose dans le liquide péricardique est un paramètre apparemment plus fiable, car plus fréquent que la glucosurie chez les chèvres. En pratique, il n'existe pas de test commercialisé pour doser quantitativement ou qualitativement la présence de glucose dans l'épanchement péricardique. En pratique, une bandelette urinaire pourrait servir, mais aucune étude ne permet de valider ce test. Le Reflovet® après filtration et centrifugation du liquide serait le test le plus fiable mais irréalisable en pratique [SCIL 2005, Uzal 2004].

### **SANG**

#### ***Urémie et créatinémie***

Ce sont les témoins d'une insuffisance rénale. Ces paramètres augmentent considérablement chez les chevreaux et agneaux atteints d'une toxémie due à la toxine  $\epsilon$ . La hausse de l'osmolarité sanguine est accentuée par les pertes liquidiennes dues aux diarrhées et aux dommages vasculaires. Mais les signes d'insuffisance rénale sont rares et trop tardifs pour être détectés. La créatinémie et l'urémie ne seraient donc pas fiables [Uzal et Kelly 1996, Uzal 2004].

#### ***Glycémie***

Chez les ovins, elle peut atteindre une valeur triple de la valeur normale, soit entre 120 et 250 mg/100 mL [Popoff 1979]. L'induction expérimentale d'une entérotoxémie de type D chez l'agneau et le chevreau provoque une augmentation similaire de la glycémie dans les 2

espèces. Les chevreaux subissent une augmentation moindre, mais la différence n'est *a priori* pas significative [Blackwell *et al.* 1991].

### ***Formule sanguine***

Chez les animaux vivants la numération cellulaire augmente rapidement à 16 000 leucocytes/mm<sup>3</sup> et peut plafonner à 47 000 leucocytes/mm<sup>3</sup>. La mesure des taux de leucocytes permettrait une détection précoce des animaux infectés [Uzal 2004].

### ***Ionogramme***

Les ions K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup> semblent conserver une valeur normale [Popoff 1979, Uzal 2004].

En pratique, les examens de laboratoire ne sont pas réalisés systématiquement. Le diagnostic repose sur des éléments épidémiologiques et cliniques de la maladie. Un épisode de mortalité subite des agneaux, avec des troubles nerveux, associés ou non à une diarrhée peu parfois suffire. De même chez la chèvre laitière, la mort brutale de plusieurs individus, présentant une diarrhée hémorragique est suffisamment caractéristique pour conclure au diagnostic de la maladie.

Compte tenu de la faible valeur économique individuelle des petits ruminants, l'autopsie n'est demandée qu'après la perte de plusieurs individus. Elle reste l'examen de choix. Les ovins présentent peu de lésions caractéristiques, d'où l'intérêt d'effectuer des examens complémentaires. Les caprins présentent des lésions plus typiques, notamment au niveau du tractus digestif, avec une entérite hémorragique. Les urines et le liquide péricardique sont 2 éléments intéressant à prélever. La glucosurie est un bon indicateur d'entérotoxémie. Ce test est particulièrement important chez les ovins, bien qu'il ne soit pas constant. La présence de glucose dans le liquide péricardique a une valeur diagnostique forte, surtout chez les caprins, mais aucun test rapide et réalisable sur le terrain, n'existe à ce jour.

Si des examens complémentaires sont requis, le vétérinaire envoie au laboratoire un prélèvement de contenu digestif et éventuellement un prélèvement sanguin, sur suspicion clinique et nécropsique. Les examens le plus fréquemment effectués sont : l'identification et le dénombrement après culture cellulaire puis éventuellement le typage par test ELISA. Les résultats sont fournis d'après des normes bovines en général.

Les autres techniques diagnostiques ne sont utilisées que dans le domaine de la recherche.

## **2. MOYENS DE LUTTE**

---

Etant données la rapidité d'évolution et la sévérité des symptômes, le pronostic est très sombre. Le traitement est souvent illusoire. On considère que si l'animal se rétablit, il y avait erreur sur le diagnostic. Toutefois, le traitement peut être mis en œuvre sur les formes modérées ou en début d'infection. Les animaux vaccinés demeurent plus réceptifs au traitement et bénéficient d'un meilleur pronostic.

### **TRAITEMENT**

#### **MESURES HYGIÉNIQUES**

En cas de présence d'entérotoxémie dans un élevage, la première mesure consiste à diminuer ou à supprimer les rations d'engraissement et de lactation ou à rentrer les animaux des pâturages luxuriants et à les maintenir à un régime pauvre à base de foin. Après 1 à 3 semaines, les quantités d'aliments concentrés pourront être augmentées progressivement, et réparties sur plusieurs repas au cours de la journée.

La distribution de foin grossier ou la mise en pâturage est recommandée pour assurer un apport suffisant en fibres. Lorsque des cas d'entérotoxémie surviennent chez des jeunes à l'allaitement, il est conseillé de diminuer temporairement la ration ou l'herbage des mères de manière à réduire la production lactée [Popoff 1994].

Un traitement anthelminthique est à prévoir si les animaux sont parasités.

Des mesures de désinfection des locaux et du matériel des jeunes animaux peuvent être instaurées. Les mères doivent être isolées à la mise bas [Latour 2004].

#### **MESURES MÉDICALES**

##### **Traitement symptomatique**

Le traitement symptomatique consiste à lutter contre l'état de choc lié à l'intoxination et aux pertes hydriques. Une réhydratation avec un soluté salin ou glucosé est de rigueur. Des

hépato-protecteurs et des analeptiques cardio-respiratoires peuvent également être administrés [Popoff 1994].

En présence de lésions intestinales nécrotiques et hémorragiques, la résection chirurgicale des segments lésés serait indispensable. Ceci est difficilement envisageable d'un point de vue pratique et économique chez les petits ruminants [Popoff 1989].

### **Antibiothérapie**

L'antibiothérapie vise à réduire la prolifération des clostridies dans l'intestin et dans l'organisme. Ils limitent ou suppriment la production de toxine, mais la toxine secrétée antérieurement n'est pas inactivée : les antibiotiques n'ont donc que peu d'effets sur les stades avancés de la maladie [Ann.<sup>3</sup>2005].

L'antibiotique de choix reste la famille des pénicillines. Les antibiotiques à base de céphalosporines, tétracyclines, érythrocyne-lincomycine sont souvent inopérants.

L'antibiothérapie échoue très souvent. Lors d'infection à *C. septicum*, on suppose que la raison de cet échec est encore hypothétique, mais on pense qu'on peut l'attribuer aux protoxines  $\alpha$ , dont le pouvoir pathogène s'exprime bien après la disparition de *C. septicum*. L'antibiotique est donc administré souvent trop tard, même lorsqu'une métaphylaxie est tentée [Manteca *et al.* 2005].

### **Sérothérapie**

La sérothérapie peut être employée pour le traitement des infections diagnostiquées précocement [Ann.<sup>1</sup>2005].

L'activité des toxines clostridiennes est inhibée par les anticorps spécifiques (antitoxines). Une chèvre peut être sauvée par l'administration de 25 mL d'un sérum contenant l'antitoxine de *C. perfringens* C et D adjoint d'un traitement antibiotique à base de sulfamides [Blackwell et Butler 1992]. Cependant les antitoxines inhibent uniquement les toxines circulantes et ne peuvent pas agir sur les toxines fixées sur leur récepteur. [Dart 2005] De plus, les doses de sérum sont importantes et donc très coûteuses. La sérothérapie est donc rarement prescrite à titre curatif [Popoff 1989].

En plus de la vaccination, l'antitoxine peut entrer dans un programme de prévention chez les animaux à risque. L'antitoxine fournira à un animal 10 jours à 3 semaines de protection [Ann.<sup>1</sup> 2005].

### **Phytothérapie**

Au Mexique, certaines plantes traditionnellement utilisées dans le traitement des affections gastro-intestinales, exercent action inhibitrice sur la croissance, la sporulation et la production d'entérotoxine de *C. perfringens* type A. Quant aux autres types de *C. perfringens*, aucune donnée n'a été publiée.

Les extraits de *Psidium guavara*, *Haemotoxylon basiletto* et *Euphobia prostata* ont une activité anti-clostridienne. Il a été démontré que *P. guavara* aurait une activité anti-diarrhéique par ralentissement du péristaltisme intestinal (observé *in vitro*)

Ces plantes peuvent être utilisées à titre curatif mais aussi à titre préventif en les mêlant à l'alimentation [Garcia *et al.* 2002].

Le choix d'instaurer un traitement d'entérotoxémie est rare pour 2 raisons : la rapidité d'évolution de la maladie et la faible valeur économique des petits ruminants. Sa mise en œuvre est identique chez les ovins et les caprins. Le traitement symptomatique est primordial, il est associé à une antibiothérapie à base de pénicilline. Le pronostic reste cependant très sombre. La sérothérapie donne de bons résultats mais elle est trop coûteuse.

## **PROPHYLAXIE**

### **MAÎTRISE DES FACTEURS DE RISQUE**

La maîtrise des facteurs de risque débute par la gestion du rationnement : il faut éviter les rations acidogènes, les pâturages luxuriants et prévoir des périodes de transition alimentaires. Il est donc recommandé de mesurer la qualité et la quantité des aliments en fonction du stade physiologique des animaux : composants de la ration (taux en glucides à fermentation rapide, pH des ensilages), taille des particules (40% de la MS sous forme de particules supérieures à 2 mm), rapport concentrés/fourrages environ 40%)... [Sauvant *et al.* 1999]

Mais la restriction alimentaire est en contradiction avec les objectifs de production, d'autant plus que les élevages intensifs ou semi-intensifs sont les plus en proie aux entérotoxémies. Les éleveurs sont tenus de trouver un compromis entre l'hygiène alimentaire du troupeau et la production.

La gestion du parasitisme constitue le second point de la maîtrise des facteurs de risque. Elle est l'une des principales problématiques en élevage de petits ruminants. Ce paramètre représente un élément de prévention important.

La prévention des entérotoxémies par la maîtrise des facteurs de risque n'est pas fiable à 100%. En pratique, même les éleveurs les plus consciencieux connaissent des cas isolés ou des épizooties d'entérotoxémie. La maîtrise efficace de la maladie nécessite de vacciner le troupeau.

## VACCINATION

### Préparation des vaccins

#### 1) OBTENTION DES ANTIGÈNES

Pour la préparation de chaque vaccin, on sélectionne la souche qui produit le titre le plus élevé de toxine. L'origine de cette souche n'a pas d'importance. Ainsi, une souche de *C. perfringens* D isolée chez un bovin de Nouvelle Zélande est une aussi bonne candidate qu'une souche ovine isolée en France. Il n'a pas été observé de dérive antigénique parmi les toxines de *Clostridium* [Popoff 1989].

Les bactéries sont cultivées en grande quantité dans des cuves à fermentation dans les conditions qui permettent le meilleur rendement de production de toxine. Après traitement au formaldéhyde, les organismes sont centrifugés. La toxine est récupérée dans le surnageant. Il s'agit alors d'un « toxoid ». Le vaccin commercialisé par les laboratoires Schering-Plough, Covexin® 8 est un exemple de vaccin fabriqué à partir de « toxoid ».

La quantité de toxine produite en phase de croissance est mesurée par un test de l'activité enzymatique (lécithinase, hémolyse...) ou par un test *in vivo* comme le test MNT. La valeur est exprimée en dose minimale hémolytique, en terme de dose létale (DL<sub>50</sub> pour la souris), ou en équivalent standard en antitoxine.

Dans la mesure où le retrait de *C. perfringens* induit une perte considérable de l'efficacité vaccinale, certains fabricants prennent le parti de laisser les cellules bactériennes dans la préparation pour créer une double immunité. Cette technique obtient de bons résultats, notamment avec le vaccin Xento® produit par Schering-Plough.

L'antigène est ensuite associé à un adjuvant. A ce stade, chaque lot de vaccin subit une série de contrôles chimiques, de stérilité, d'innocuité et d'efficacité.

L'efficacité du vaccin est vérifiée sur des animaux de laboratoire. Selon un protocole standard, on détermine le titre en anticorps neutralisant induits par la vaccination. Les résultats sont exprimés en unités internationales. Pour chaque valence, les vaccins doivent induire un titre minimum d'anticorps neutralisant, normes définies comme assurant une protection suffisante contre les entérotoxémies survenant spontanément. Les vaccins à *C. sordellii* sont testés après épreuve virulente : les animaux doivent être protégés contre une injection standardisée de *Clostridium* toxigène [Popoff 1989].

Beaucoup de vaccins anti-clostridiens sont multivalents. Les valences se limitent souvent aux clostridies, mais certains sont couplés à d'autres maladies, comme Heptavac®, qui lutte conjointement contre les affections respiratoires avec une valence anti-pasteurelle [Walker 1992].

La mise au point de vaccins multivalents est onéreuse et délicate. Il serait plus judicieux d'adapter les formules des vaccins aux conditions épidémiologiques. Un nombre élevé de valences peut remettre en cause leur efficacité. La prescription du vaccin approprié procure souvent de meilleurs résultats que ceux d'un vaccin large spectre [Popoff 1989].

### CHOIX DE L'ADJUVANT

Les adjuvants potentialisent la réaction immunitaire.

#### *Sels minéraux*

Les vaccins contre l'entérotoxémie sont le plus souvent adjuvés de sel minéral, comme l'hydroxyde d'aluminium, le phosphate d'aluminium ou le sulfate d'aluminium et de potassium. Mais le choix de l'adjuvant conditionne la qualité de la réponse immunitaire.

Chez le mouton, les animaux vaccinés avec un vaccin adjuvé au sulfate de potassium et d'aluminium ne produisent pas assez d'anticorps pour être protégés (100% létalité sur test MNT), même lorsque la dose vaccinale augmente. En revanche, 2 mL de vaccin adjuvé à l'hydroxyde d'aluminium permettent une immunité satisfaisante (test MNT négatif) [Srinivasan

*et al.* 2001]. Des résultats similaires sont obtenus chez les chèvres [Uzal et Kelly<sup>2</sup> 1998].  
L'hydroxyde d'aluminium est l'adjuvant le plus utilisé par les fabricants.

➤ **Adjuvants huileux**

Les adjuvants huileux obtiennent de meilleurs résultats que les autres adjuvants. Ils permettent une protection locale et générale sur 100% des sujets vaccinés [Uzal et Kelly<sup>2</sup> 1998].

<b>Lots</b>	<b>Titre en AC UI/mL</b>	<b>Lésions digestives</b>	<b>Lésions systémiques</b>
Vaccin adjuvant huileux (5 chevreaux)	2,45-230	0/5	0/5
Vaccin adjuvant hydroxyde d'aluminium (4 chevreaux)	0,2-1,5	4/4	1/4
Témoin non vacciné (5 chevreaux)	<0,03	5/5	5/5

Les adjuvants huileux et leurs dérivés sont plus efficaces, car ils exercent une action « réservoir » : ils permettent une diffusion plus longue des antigènes dans le sang. De ce fait, la stimulation des macrophages et de la réponse humorale est plus intense et plus soutenue qu'avec un autre adjuvant. On obtient ainsi une meilleure réponse anticorps. L'hypothèse d'une injection unique serait alors envisageable [Uzal *et al.*<sup>2</sup> 1999].

Mais les adjuvants huileux bénéficient d'une moins bonne résorption. Ils sont rarement utilisés à cause d'une forte réaction au site d'injection. Pour pallier cette intolérance locale, une injection intra-musculaire peut être pratiquée [Walker 1992].

Les adjuvants huileux sont utilisés dans l'industrie pharmaceutique pour produire des chèvres hyper-immunisées [Uzal et Kelly<sup>2</sup> 1998].

**Spécialités et protocoles**

En France, 5 spécialités vétérinaires contre les entérotoxémies sont disponibles pour les petits ruminants. [Petit 2005]

### **1) MILOXAN® (LABORATOIRE MERIAL)**

C'est un vaccin inactivé, adjuvé d'hydroxyde d'aluminium. Chaque dose de 2 mL permet le contrôle des infections à *C. perfringens* type B, C et D avec des taux d'anticorps antitoxine  $\beta$  et  $\epsilon$  respectivement de 10 UI/mL et 5 UI/mL de sérum. Ce vaccin protège aussi contre *C. septicum*, *C. novyi*, *C. tetani* avec 2,5 UI/mL d'antitoxine et à 100% contre *C. chauvoei* et *C. sordellii*.

Il est donc indiqué dans la prévention des entérotoxémies à *C. perfringens* et *C. sordellii*, en particulier la dysenterie de l'agneau, la « struck disease » et la maladie du rein pulpeux. L'AMM est obtenue pour les espèces : bovins, ovins et caprins.

La primo vaccination s'effectue en 2 injections à 4-6 semaines d'intervalle dès l'âge de 15 jours pour les animaux nés de mère non vaccinée et dès l'âge de 8 semaines pour les animaux nés de mère vaccinée. Pour une meilleure immunité colostrale, les mères reçoivent une injection de rappel 2-6 semaines avant la date présumée de mise bas. Le rappel est annuel.

Etant donné l'hypersensibilité des chèvres, il est recommandé de pratiquer des injections test sur un petit effectif et il est déconseillé de vacciner en période de gestation.

### **COGLAVAX® (LABORATOIRE ceva)**

C'est un vaccin inactivé, adjuvé. Une dose de 2 mL permet de prévenir les infections à *C. perfringens* type A, B, C, et D avec des taux d'anticorps antitoxine  $\alpha$ ,  $\beta$ , et  $\epsilon$  respectivement de 2, 10 et 5 UI/mL de sérum. Il protège aussi contre *C. septicum*, *C. novyi*, *C. tetani* et *C. chauvoei*. Ce vaccin est notamment indiqué dans la prévention des entérotoxémies chez les bovins, ovins, caprins et lapins.

Le protocole de vaccination est identique à celui de Miloxan®.

Les précautions d'emploi pour Miloxan® sont applicables pour Coglavax®.

### **COGLAMUNE® (LABORATOIRE ceva)**

Ce vaccin est équivalent au précédent, mais ne contient que les anatoxines de *C. perfringens*. Il est indiqué uniquement pour la prévention des entérotoxémies chez les bovins, ovins, caprins, porcins et lapins.

### **TASVAX® HUIT (LABORATOIRE schering plough)**

C'est un vaccin inactivé, adjuvé à l'hydroxyde d'aluminium. Les taux minimaux en antitoxine  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\epsilon$  de *C.perfringens* obtenus chez l'animal de contrôle sont respectivement 1, 10 et 5 UI/mL. Il protège également contre *C. septicum*, *C.novyi*, *C. chauvoei* et *C. tetani*. Il est préconisé pour la prévention des clostridioses, dont les infections à *C. perfringens* type A, B, C et D chez les bovins, ovins, caprins et les lapins.

Le protocole de vaccination est identique aux précédents.

### **SERANAMIX® (LABORATOIRE ceva)**

Vaccin inactivé, adjuvé à l'hydroxyde d'aluminium. Les taux minimaux d'antitoxine  $\beta$  et  $\epsilon$  de *C. perfringens* permis par le vaccin sont respectivement de 10 et 5 UI/mL de sérum. Il prévient aussi contre les infections à *C. septicum*, *C.novyi*, *C. tetani* et *Escherichia coli*.

Ce vaccin est indiqué dans la prévention des maladies clostridiennes, notamment à *C. perfringens* type B, C et D, chez les ovins, caprins et lapins..

La primo vaccination se déroule en 2 injections de 5 mL à 21 jours d'intervalle ou 48 heures d'intervalle si la pression microbienne est élevée. Le rappel est effectué tous les 6 mois et 1 mois avant la mise bas pour les femelles gravides.

Le tableau X détail les vaccins contre l'entérotoxémie disponibles en France. Les vaccins sont tous inactivés et adjuvés avec l'hydroxyde d'aluminium. Les taux en anticorps antitoxine après injection sur un animal de contrôle sont équivalents d'un vaccin à l'autre. Les doses et les protocoles sont identiques pour la plupart. Sérénamix® fait exception, en pratique il est davantage utilisé chez le lapin.

Les réelles différences entre les spécialités sont les valences. *C. perfringens* type B, C et D sont retrouvés dans toutes les spécialités. La protection contre *C. perfringens* type A n'est pas systématique. Or cet agent semble responsable de la majorité des entérotoxémies des petits ruminants en France. Seuls Coglavax® et Coglamine® possèdent cette valence. Miloxan® protège contre *C. sordellii*, dont la prévalence chez les petits ruminants est loin d'être négligeable. Toutefois, l'utilité de cette valence est discutable car le rôle de *C. sordellii* dans la pathogénicité est nul chez les ovins et reste à prouver chez les caprins. Les laboratoires Schering Plough s'apprêtent à commercialiser un vaccin contenant une valence contre *C. sordellii*, sous le nom de Covexin® 10.

**Tableau X : Vaccins contre les infections clostridiennes disponibles en France pour les petits ruminants en 2005 [Petit 2005].**

Spécialité	Valences contre l'entérotoxémie	AMM	Protocole d'utilisation	Autres valences
<b>Miloxan®</b>	<i>C. perfringens B</i> <i>C. perfringens C</i> <i>C. perfringens D</i> <i>C. sordellii</i> <i>C. septicum</i>	<b>Ovins,</b> <b>Caprins</b>  , Bovins	<u>Primo</u> : 2 injections de 2 mL à 4-6 semaines d'intervalle. Jeunes nés de mère non vaccinée : dès 15j Jeunes nés de mère vaccinée : dès 8 semaines <u>Rappel</u> : annuel Femelles gravides : 2-6 semaines avant mise bas	<i>C. novyi</i> <i>C. tetani</i> <i>C. chauvoei</i>
	<b>Coglavax®</b>	<i>C. perfringens A</i> <i>C. perfringens B</i> <i>C. perfringens C</i> <i>C. perfringens D</i> <i>C. septicum</i>		<b>Ovins,</b> <b>Caprins</b> , Bovins, Lapins
<b>Coglamune®</b>		<i>C. perfringens A</i> <i>C. perfringens B</i> <i>C. perfringens C</i> <i>C. perfringens D</i>		<b>Ovins,</b> <b>Caprins</b> , Bovins, Lapins, Porcins
	<b>Tasvax®</b>	<i>C. perfringens B</i> <i>C. perfringens C</i> <i>C. perfringens D</i> <i>C. septicum</i>		<b>Ovins,</b> <b>Caprins</b> , Bovins, Lapins
<b>Séranamix®</b>		<i>C. perfringens B</i> <i>C. perfringens C</i> <i>C. perfringens D</i> <i>C. septicum</i>		<b>Ovins,</b> <b>Caprins</b> , Lapins

En France, tous les vaccins contre les clostridioses ont une AMM pour les caprins, mais à l'échelle mondiale, les caprins sont souvent délaissés. La majorité des vaccins vendus dans les autres pays sont prévus pour les bovins et les ovins (Tableau XI).

**Tableau XI : Quelques vaccins vétérinaires contre l'entérotoxémie disponibles dans le monde [Shoenian 2005]**

<b>Laboratoire et nom déposé</b>	<b>Espèces</b>
<u>Boehringer Ingelheim Bar-Guard-99™</u>	Bovins
<u>Boehringer Ingelheim Bar Vac™ CD</u>	Bovins <b>Ovins, Caprins</b>
<u>Boehringer Ingelheim Bar Vac™ CD/T</u>	Bovins <b>Ovins, Caprins</b>
<u>Colorado Serum Case-Bac™</u>	<b>Ovins</b>
<u>Colorado Serum Caseous D-T™</u>	<b>Ovins</b>
<u>Colorado Serum C-D Antitoxin</u>	Bovins, porcins <b>Ovins, Caprins</b>
Colorado Serum CD/T	Bovins <b>Ovins</b>
<u>Schering Plough Covexin™ 8</u>	Bovins <b>Ovins</b>
CSL Glanvac®	<b>Ovins</b>
Intervet Heptavac®	Porcins <b>Ovins</b>

Les caprins reçoivent des doses et des protocoles ajustés, mais sans certitude sur l'innocuité et l'efficacité du vaccin. L'utilisation hors AMM de vaccins obligerait à appliquer le « principe de la cascade » selon lequel les temps d'attente pour le lait et la viande sont fixés arbitrairement à 7 jours et 28 jours.

La vaccination contre l'entérotoxémie est un acte répandu en élevage de petits ruminants, car la maîtrise totale des facteurs de risque étant difficile, elle semble être l'une des meilleures manières de se protéger de la maladie. En France 5 spécialités ont une AMM ovine et caprine. Toutes protègent contre les entérotoxémies de types B, C et D, et la plupart ont la valence de *C. septicum*. Seulement 2 ont la valence de *C. perfringens* type A et une seule a celle de *C. sordellii*. L'utilisation des vaccins doit se faire selon un choix raisonné par rapport à la prévalence des agents étiologiques d'entérotoxémie et à leur pathogénicité. En France, *C. perfringens* type A a la plus forte prévalence et la pathogénicité de *C. sordellii* est discutée. Si ces données ne sont pas erronées, il semblerait que certains vaccins commercialisés ne soient pas adaptés à la situation en France.

## **Innocuité de la vaccination**

La question de l'innocuité se pose quant à l'utilisation des vaccins sur les chèvres, car ces animaux présentent fréquemment des réactions d'hypersensibilité.

### 1) **RÉACTION D'HYPERSENSIBILITÉ**

Les caprins sont connus pour leur hypersensibilité. La vaccination peut provoquer une réaction forte voire un choc anaphylactique. Il est donc recommandé par la plupart des fabricants d'effectuer un test préalable sur un effectif réduit, avant de vacciner l'ensemble du cheptel. De même, il est déconseillé de vacciner les chèvres gestantes et en début de lactation [Petit 2005].

### **RÉACTION AU LE SITE D'INJECTION**

Les préparations brutes contiennent de nombreux antigènes dont certains sont allergisants et les adjuvants peuvent avoir un effet irritant [Popoff 1989].

Il existe une réaction inflammatoire de 2-3 cm de diamètre au niveau du site d'injection. On ne détecte pas de différence significative de l'inflammation, entre ovins et caprins le lendemain de la vaccination. Sur la période 7-14 jours post injection, les ovins réagissent davantage : inflammation plus étendue, sur un plus grand nombre d'individus. L'écart diminue après 28 jours [Green *et al.* 1987]. La réaction inflammatoire est encore palpable sur 53% des chèvres 6 mois après. Pour cette raison, l'injection est pratiquée sur la nuque ou derrière les oreilles, de manière à préserver la carcasse. De plus, il est important de choisir un site d'injection loin des nœuds lymphatiques, afin d'éviter toute confusion avec une lymphadénite caséuse [Blackwell *et al.* 1983].

La réaction au site d'injection semble être corrélée avec la réponse humorale 14 jours post injection [Green *et al.* 1987].

Les ovins présentent donc une réaction au site d'injection plus forte que chez les caprins. Par ailleurs, aucun autre risque n'est recensé, qui empêcherait l'utilisation des vaccins sur les chèvres.

## **Efficacité de la vaccination**

Chaque espèce présente des spécificités qui conditionnent l'efficacité de la vaccination : le taux d'anticorps initial, la réponse humorale post-vaccinale et la protection clinique permise par la vaccination.

### 1) **TAUX D'ANTICORPS PRÉ-VACCINAL**

Le taux d'anticorps anti-toxine initial conditionne probablement la qualité de la réponse vaccinale. Plus il est élevé, plus le potentiel immunitaire de l'animal est bon, meilleure sera la réponse anticorps.

On connaît depuis longtemps l'existence d'une immunité naturelle à *C. perfringens* chez les ovins. Cette séroconversion est acquise progressivement grâce à la présence de *C. perfringens* et la sécrétion de toxines en faible quantité dans l'intestin des animaux sains [Daube 1992]. On considère que chez les ovins, le taux d'anticorps pré-vaccinal est supérieur de 17% à celui des caprins [Green *et al.* 1987]. Dans l'espèce caprine, la moitié des individus issus d'élevage indemne d'entérotoxémie possède un titre en anticorps anti-toxine  $\epsilon$  non nul avant la première injection de vaccination. Mais il est insuffisant pour fournir une protection contre la maladie [Blackwell *et al.* 1983].

La variabilité du taux d'anticorps initial entre individus d'une même espèce est probablement due au passé vaccinal, au statut physiologique ou à l'immuno-compétence individuelle [Blackwell *et al.* 1983].

### **RÉPONSE ANTICORPS APRÈS INJECTION**

La réponse anticorps post vaccination est sensiblement différente chez les 2 espèces.

#### ***Seuils protecteurs***

Chez les ovins, la concentration minimale protectrice en anticorps anti-toxine  $\epsilon$  est estimée entre 0,1 et 0,3  $UI/mL$  selon les auteurs.

Chez les caprins, les seuils de protections ne sont pas clairement établis. En 1960, une valeur limite protectrice est définie à 0,15 UI/mL. En 1983 les individus sont classés en 3 groupes. Pour être protégées, les chèvres doivent présenter une concentration en anti-toxine  $\epsilon$  supérieure à 1 UI/mL. Les sujets présentant des valeurs comprises entre 0,1 et 1 UI/mL sont classés comme individus à risque et ceux possédant un taux inférieur à 0,1 UI/mL ne sont pas protégés [Blackwell *et al.* 1983]. Plus tard en 1998, les résultats suivants sont obtenus: les animaux présentant un taux supérieur à 2,45 UI/mL sont protégés à la fois contre les effets systémiques et digestifs, tandis que les animaux présentant un taux compris entre 0,22 et 1,52 UI/mL développent une légère diarrhée sans trouble systémique [Uzal et Kelly<sup>2</sup> 1998]. Toujours en 1998, les mêmes auteurs définissent arbitrairement une valeur protectrice de 0,25 UI/mL [Uzal *et al.* 1998].

En bref, le seuil de protection chez la chèvre varie entre 0,15 et 1 UI/mL selon les auteurs, mais le plus récemment retenu est 0,25 UI/mL.

### ***Amplitude de la réponse anticorps***

Un pic sérique est obtenu entre le 14<sup>ème</sup> et 28<sup>ème</sup> jour post vaccination. Les ovins présentent un taux d'anticorps supérieur de 30% à celui des caprins. De plus, ils bénéficient d'une variation du taux d'anticorps significativement plus importante [Green *et al.* 1987].

Les caprins sont en proie à de fortes variations individuelles pouvant atteindre 100 UI/mL [Blackwell *et al.* 1983].

Par ailleurs, les chèvres ne sont pas réactives avec tous les vaccins commercialisés. Chez les ovins, on observe une augmentation du titre en anticorps sur tous les animaux, quel que soit le vaccin utilisé, alors que chez les caprins, le vaccin Heptavac® par exemple, n'induit pas une meilleure réponse que le témoin. L'étude en question n'en n'a pas déterminé la raison [Green *et al.* 1987].

### ***Persistance du taux d'anticorps***

L'évolution dans le temps des titres d'anticorps anti-toxine est similaire chez les ovins et les caprins. La demi vie des immunoglobulines sériques chez les ovins est de 17 jours, contre 14-17 jours chez les caprins [Blackwell *et al.* 1983].

Mais les seuils de protections sont spécifiques. Dans le cadre d'utilisation de vaccins ovins chez des caprins (acte répandu à l'étranger) les protocoles vaccinaux appliqués aux ovins, doivent être adaptés pour une efficacité optimale chez les caprins.

### ***Intervalle entre les rappels***

#### **Chez les ovins**

L'évolution du titre d'anticorps dans le temps conditionne l'intervalle entre les rappels de vaccination. Les avis des auteurs divergent. La chute de l'immunité après une première injection, nécessite un rappel entre 2 et 6 semaines pour un vaccin adjuvé à l'hydroxyde d'aluminium.

Une étude récente prouve que les ovins possèdent un titre anticorps suffisant pour assurer leur protection ( $> 0,15$  UI/mL) jusqu'à 8 semaines après une première injection de vaccination. Un rappel de primo vaccination effectué à 8 semaines, permet une réponse d'amplitude plus élevée, avec un pic sérique plus tardif. Bien qu'il ne semble pas y avoir de corrélation entre l'amplitude de la réponse anticorps et la persistance d'un taux en antitoxine protecteur, la présence d'un pic décalé, permet une protection plus longue. Il serait donc recommandé d'effectuer le rappel de primo vaccination 8 semaines après la première injection. Mais cette étude est effectuée avec un vaccin monovalent contre *C. perfringens* type D et adjuvé à l'hydroxyde d'aluminium. La question de l'application de ce délai avec des vaccins commercialisés (souvent multivalents) reste posée [Bernath *et al.* 2004].

#### **Chez les caprins**

Le titre en anticorps passe en deçà du seuil de protection ( $0,25$  UI/mL) entre la 4<sup>ème</sup> et la 6<sup>ème</sup> semaine après la première injection. De la même manière que chez les ovins, une injection de rappel effectuée 6 semaines après la première injection permet une réponse anticorps plus forte. Mais l'amplitude et la persistance du taux d'anticorps ne sont pas corrélées. Que le rappel soit effectué à 4 ou 6 semaines post primo, l'immunité devient insuffisante dès la 14<sup>ème</sup> semaine. Il est donc recommandé d'effectuer un premier rappel 4 à 6 semaines après la première injection puis un second rappel environ 1 mois après. Le protocole se poursuit à raison d'un rappel tous les 3-4 mois [Uzal *et al.* 1998].

La vaccination contre l'entérotoxémie se révélerait alors coûteuse et chronophage pour les éleveurs et problématique sur le choix du site d'injection [Uzal et Kelly<sup>2</sup> 1998].

Les chèvres reçoivent en pratique double dose de vaccin et un rappel tous les 6 mois (exemple donné avec Tasvax®, Covexin® 8 et Heptavac®) [Green *et al.* 1987].

## 0) PROTECTION PERMISE PAR LA VACCINATION

L'efficacité de la vaccination est reconnue chez les ovins. En revanche, elle est contestée chez les caprins. La vaccination des chèvres permettrait de diminuer l'incidence et la sévérité des symptômes d'entérotoxémie, mais ce résultat est loin d'être systématique.

### ➤ *Hypothèse*

L'hypothèse première est fondée sur l'expression clinique de la maladie. *C. perfringens* pénètre « facilement » dans l'organisme des ovins et ses effets sont systémiques. La vaccination des ovins est efficace car les anticorps vaccinaux protègent contre la toxémie. Au contraire chez les caprins, la bactérie exerce son pouvoir pathogène dans l'intestin, là où les anticorps vaccinaux sont faiblement présents. Il a été suggéré que l'immunisation des chèvres avec des anticorps anti-toxine  $\epsilon$  par voie parentérale, offrait une protection uniquement contre les effets systémiques de la maladie et non contre les dommages intestinaux et ceux causés par les autres toxines clostridiennes. La vaccination des chèvres est remise en cause sérieusement.

### ➤ *L'immunité de la muqueuse intestinale*

Chez les ruminants, la meilleure immunité de la muqueuse intestinale est obtenue par stimulation antigénique de la muqueuse elle-même. L'immunisation par la voie parentérale obtient de moins bons résultats.

L'immunisation par voie parentérale stimule la production IgG<sub>1</sub>. Mais il est reconnu que l'immunité de la muqueuse est réalisée par les IgA et que les IgE constituent une seconde ligne de défense. Les IgA luttent contre l'absorption des bactéries et des toxines en bloquant leur adhésion à la paroi intestinale. Leur action est double : elles protègent contre les effets délétères des toxines sur la muqueuse intestinale et elles diminuent leur action systémique en limitant leur absorption dans l'organisme.

Lors d'un épisode de la maladie, l'augmentation de la perméabilité de la paroi intestinale entraîne une exsudation. Les IgE et les IgG contenues dans les fluides sortant neutralisent les toxines dans la lumière intestinale.

Mais le rôle des IgE et des IgG dans la protection de la muqueuse intestinale n'est que secondaire car la muqueuse intestinale des ruminants ne secrète qu'un faible taux d'IgE. De

plus, une étude sur des ovins montre que les IgG issue du plasma sanguin ne représente que 1/6<sup>ème</sup> des immunoglobulines prélevées dans la lumière intestinale [Uzal et Kelly<sup>2</sup> 1998].

➤ *L'immunité sérique*

Bien que le taux d'IgA dans la muqueuse intestinale soit indépendant du taux sérique en IgG, il y aurait une corrélation entre la protection contre les effets locaux de la toxine et la concentration en anticorps sériques. En effet, les animaux vaccinés ne développent pas la maladie ou présentent simplement des symptômes digestifs atténués. Les animaux non vaccinés sont touchés par des signes digestifs et systémiques [Uzal et Kelly<sup>2</sup> 1998].

La vaccination provoque une réaction persistante au point d'injection, qui peut avoir un effet dépréciateur de carcasse si elle est mal située. Elle est plus forte chez les ovins que chez les caprins.

L'efficacité de la vaccination est reconnue chez les ovins et douteuse chez les caprins. Il existe des variations spécifiques de la réponse humorale post vaccinale. Non seulement, les ovins bénéficient d'un taux d'anticorps pré vaccinal (potentiel immunitaire) supérieur à celui des caprins, mais la réponse humorale post-vaccinale est aussi meilleure, avec un taux d'anticorps supérieur de 30% à celui des caprins. Les chèvres sont caractérisées par de fortes variabilités individuelles par rapport à la réponse vaccinale, leur seuil de protection n'est pas encore connu précisément et il semblerait qu'elles nécessitent des rappels vaccinaux plus fréquents que les ovins. Les raisons de ces différences entre ovins et caprins, et de la variabilité individuelle au sein de l'espèce caprine ne sont pas déterminées avec certitude. L'immunité de la muqueuse intestinale est l'une des principales pistes de réflexion.

## CONCLUSION

---

Les agents étiologiques d'entérotoxémie sont les mêmes chez les ovins et les caprins. *Clostridium perfringens* type A est le plus fréquent en France, suivi de *Clostridium perfringens* type D. Cette tendance s'inverse dans les autres pays. Les raisons de cette discordance sont encore inconnues, mais le typage et le dénombrement précoces et systématiques des Clostridies permettraient d'objectiver le rôle de chacun des toxinotypes dans la pathogénie. Pour cela, des données comparatives sur la cinétique de croissance bactérienne dans l'intestin chez les petits ruminants sains et malades seraient utiles.

Si effectivement, *C. perfringens* type A est le principal agent d'entérotoxémie ovine et caprine en France, la politique vaccinale devrait être revue dans la plupart des élevages. De plus, *Clostridium sordellii* a une incidence importante chez les petits ruminants, mais son rôle dans la pathogénie est sérieusement discuté. Des études approfondies révéleraient l'utilité de vacciner contre ce germe.

Alors que les ovins et les caprins sont sensibles aux mêmes agents étiologiques d'entérotoxémie, leur spécificité influence l'expression de la maladie sur les plans épidémiologique, clinique et lésionnel.

La forme ovine se déclare préférentiellement chez les agneaux à l'engrais, provoquant des signes systémiques et nerveux. A l'autopsie, peu de lésions apparaissent. La forme caprine touche essentiellement l'animal adulte en production, induisant une diarrhée profuses et hémorragique. L'examen nécropsique est marqué par d'importants dommages intestinaux. Aucun symptôme, ni aucune lésion n'est pathognomonique de la maladie.

La réponse vaccinale est également variable d'une espèce à l'autre: les caprins nécessitent des doses vaccinales plus fortes et des rappels plus fréquents que les ovins ; l'efficacité de la vaccination des chèvres reste contestable.

Les hypothèses actuelles qui tentent d'expliquer ces différences, sont axées sur la sensibilité et la réceptivité spécifiques des ovins et des caprins.

Aucune recherche à ce jour n'a permis de déterminer les facteurs de sensibilité aux toxines clostridiennes permettant d'expliquer la variabilité entre les formes ovine et caprine. Grâce à des outils diagnostiques très performants et aux connaissances actuelles en terme de génétique, les hypothèses sont aujourd'hui plus facilement explorables.



## **LEXIQUE DES ABRÉVIATIONS**

---

°C: degré Celsius

ADN: Acide Désoxy-ribo-Nucléique

ADP: Adénosyl di-phosphate

AFSSA: Agence Française de Sécurité Sanitaire et des Aliments

AMM: Autorisation de Mise sur le Marché

AMPc: Adénosyl Mono-Phosphate cyclique

ARN<sub>r</sub>: Acide Ribo-Nucléique ribosomique

*C.* : *Clostridium*

*cf.*: confère

Cl<sup>-</sup>: ion chlorure

DL: Dose Létale

ELISA: Enzym Linked Immunosorbant Assay

H<sub>2</sub>S: Sulfure de di-hydrogène

HT: Toxine Hémorragique

K<sup>+</sup>: ion potassium

kb : kilo base

kDa: kilo Dalton

LT: Toxine Létale

MBEC: Mouse Brain endothelial Cell

MDCK: Madin Darby Canine Kidney

mg/dL: milligramme par décilitre

mL: millilitre

mm: millimètre

MNT: Mouse Neutralisation Test

MS: Matière Sèche

Na<sup>+</sup>: ion sodium

PCR: Polymerase Chain Reaction

pH: potentiel Hydrogène

UFC: Unité Formant Colonie

UI: Unité Internationale

## BIBLIOGRAPHIE

---

- Ann<sup>1</sup>. Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA). Division de la santé des animaux et de l'élevage. Section des produits biologiques vétérinaires. *Site de l'agence canadienne d'inspection des aliments*. Mise à jour le 24 novembre 2005. [<http://www.inspection.gc.ca/français/vetbio/>] (consulté le 28 novembre 2005).
- Ann<sup>2</sup>. Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière. *Site de l'université de médecine Paris VI*. Mise à jour le 13 octobre 2005. [<http://www.chups.jussieu.fr>] (consulté le 20 juillet 2005)
- Ann<sup>3</sup>. Université Claude Bernard Lyon 1. *Site de l'université Claude Bernard à Lyon 1*. Mise à jour en 2005. [<http://www.univ-lyon1.fr>] (consulté le 15 mai 2005).
- Bernath S, Fabian K, Kadar I, Szita G, Barna T. (2004) Optimum time interval between the first vaccination and the booster of sheep for *Clostridium perfringens* type D. *Acta Vet Brno*. 73:473-5
- Blackwell TE, Butler DG. (1992). Clinical signs, treatment, and *post mortem* lesions in dairy goats with enterotoxaemia: 13 cases (1979-1982). *J Am Vet Med Assoc*. 200(2):214-7
- Blackwell TE, Butler DG, Bell JA. (1983) Enterotoxaemia in the goat: the humoral response and local tissue reaction following vaccination with two different bacterin-toxoid. *Can J Comp Med*;47:127-132
- Blackwell TE, Butler DG, Prescott JF, Wilcock BP. (1991). Differences in signs and lesions in sheep and goat with enterotoxaemia by intraduodenal infusion of *Clostridium* type D. *Am J Vet Res.*; 52(7):1147-52
- Chartier C. (2002) Entérotoxémie et vaccination chez les caprins. *Point Vet*. (n°spécial pathologie ovine et caprine). 140-4
- Chartier C, Broqua C. (1995) Maladies nutritionnelles et métaboliques de la chèvre adulte. *Point Vet*. 27(numéro spécial):107-118
- Chen Z, Zandonatti M, Jakubowski D, Fox HS. (1998) Brain capillary endothelial cells express MBEC1, a protein that is related to the clostridium perfringens enterotoxin receptor. *L. Investigation*. 78(3):353-362
- Clark S. (2003) Sudden death in periparturient sheep associated with *Clostridium sordellii*. *Vet Rec* 153: 340
- Dart F, *La coprologie sur le web*. Mises à jour janvier 2005 [<http://coproweb.free.fr>] (consulté le 15 mai 2005)
- Daube G. (1992) *Clostridium perfringens* et pathologies digestives. *Ann Med Vet*. 136:5-30
- Dray T. (2004) *Clostridium perfringens* type A and  $\beta_2$  toxin associated with enterotoxaemia in a 5-week-old goat. *Can Vet J* 45: 251-253
- Duchesnes C, Granum PE, Menozzi MG. Diagnosis and typing *In: Pathology and Ecology of the genus Clostridium in human, animal and foodstuffs: identification, epidemiology and prophylaxis*. [en-ligne] EU fifth framework programme, 2001. Mise à jour le 30 septembre 2005. [<http://www.genusclostridium.net>] (consulté le 15 novembre 2005).
- Ferrer LM, Garcia de Jalon J, De las Heras M. (2002) *Atlas des pathologies ovines*. Ed. Sivet. 311p.
- Garcia. S, Araiza M, Gomez M, Heredia N. (2002) Inhibition of growth, enterotoxine production, and spore formation of *Clostridium perfringens* by extracts of medicinal plants. *J. Food Prot.*, 65(10):1667-9
- Green DS, Green MJ, Hillyer MH, Morgan KL. (1987) Injection site reactions and antibody responses in sheep and goat after the use of multivalent clostridial vaccines. *Vet Rec*. 120:435-439

- Greenham LW, Harber C, Lewis E, Scullion FT. (1987) *Clostridium perfringens* in pelleted feed. Vet Rec. 120:557
- Latour P. (2004) Les entérotoxémies chez les bovins: bilan bibliographique et contribution à l'amélioration du diagnostic nécropsique et bactériologique. Thèse Méd Vét. Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, Lyon.
- Leonhart L. (2004) Les entérotoxémies: actualités bibliographiques. Thèse Méd Vét. Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, Lyon.
- Lewis CJ, Naylor RD. (1998) Sudden death in sheep associated with *Clostridium sordellii*. Vet Rec. 142:417-421
- Lucas F, Popoff M, Corthier G. (1991) Les entérotoxines bactériennes: structure, mode d'action. Ann Rech Vet. 22:147-162
- Mainil J, Duchesnes C, Pelkonen S, Dubreuil L, Menozzi MG. Identification, typing and antibiotic resistance of the genus *Clostridium*. In: *Pathology and Ecology of the genus Clostridium in human, animal and foodstuffs: identification, epidemiology and prophylaxis*. [en-ligne] EU fifth framework programme, 2001. Mise à jour le 30 septembre 2005. [<http://www.genusclostridium.net>] (consulté le 15 novembre 2005).
- Manteca C. (2003) Etude étiologique de l'entérotoxémie bovine. Thèse Méd Vét. Université de Liège, Liège. 115p.
- Manteca C. (18 octobre 2005) *Prévalence de C. perfringens type A* [courrier électronique à Trévennec K.] carlene\_trevennec@hotmail.com
- Manteca C, Daube G. (1994) Etude de l'entérotoxémie bovine en Belgique. Ann Med Vet, 138:155-164
- Manteca C, Daube G, Jauniaux T, *et al.* (2002) A role of the *Clostridium perfringens*  $\beta_2$  toxin in enterotoxaemia? Vet Microbiol. 86:191-202
- Manteca C, Daube G., Paliargues T. *et al.* (2005) Epidemiological survey of ovine enterotoxaemia in Europe. In *Proceeding of the 6th international sheep veterinary congress* Hersonnissos, Grèce. 17-21 juin 2005.
- Manteca C, Jauniau T, Ginter A, Kaeckenbeeck A, Mainil JG. (2003) Première évaluation des rôles pathogènes des toxines  $\alpha$  et  $\beta_2$  lors d'entérotoxémie bovine. In. *Compte rendu des Journées nationales GTV*. Nantes 14-17 mai 2003; p.745
- Mariano EFP, Uzal FA. (2005) Morphologic and physiologic changes induced by *Clostridium perfringens* type A  $\alpha$  toxin in the intestine of sheep. Am J Vet Res. 66:251-5
- Miserez R, Frey J, Buogo C, Capaul S, Tontis A, Burnens A, Nicolet J. (1998) Detection of alpha- and epsilon-toxigenic *Clostridium perfringens* type D in sheep and goat using DNA amplification technique (PCR). Lett Appl Microbiol. 26(5):382-6
- Mitchell G. (1999) Differential diagnosis of diarrhoea/illthrift in goat at grass. In practice. 139-143
- Niilo L. (1988) *Clostridium perfringens* type C enterotoxaemia. Can Vet J. 29:658-664
- Petit S. (2005) *Dictionnaire des Médicaments Vétérinaires (DMV)*, 13ème édition. Point vétérinaire. 1765p.
- Philippeau C, Gonçalves S, Julliard V. (2003) Diagnostic bactériologique des entérotoxémies. Point Vet. 237 : 12-13
- Phukan A, Dutta GN, Daube G, Das BC. (1997) Characterization of *Clostridium perfringens* isolates from goats. Indian Vet J. 74: 11, 915-8
- Popoff M. (1979) Entérotoxémie à *Clostridium perfringens* chez les ovins et glucosurie. Bull Soc Vet Prat de France, 63: 6, 431-448
- Popoff M. (1987) Purification and characterization of *Clostridium sordellii* lethal toxin and cross-reactivity with *Clostridium difficile* cytotoxin. Infect Immun. 55:35-43
- Popoff M. (1989) Les entérotoxémies. Revue Med. Vet. 140(6):479-491
- Popoff M. (1994) Les affections à *Clostridium* chez les ovins. Bulletin des GTV. 3 : 43-49

- Rood JJ. (1998) Virulence genes of *Clostridium perfringens*. Annu Rev Microbiol. 52: 333-60
- Sargisson N. (2004) Differential diagnosis of diarrhoea in lambs. In practice. 20-27
- Sauvart D, Meschy F, Mertens D. (1999) Les composants de l'acidose ruminale et les effets acidogènes des rations. INRA Prod Anim. 12:49-60
- SCIL: Southampton Center for Independent Living, Strasbourg. *Reflövet*® Communication personnelle, 2005.
- Shoenian S, Vaccines (biologics) used in the sheep and goat industry. *Site de Maryland small ruminant page*. Mise à jour le 11 novembre 2005. [<http://www.sheepandgoat.com/articles/vaccinestable.html>] (consulté le 15 novembre 2005)
- Sipos W, Fischer L, Schindler M, Schmoll F. (2003) Genotyping of *Clostridium perfringens* isolated from domestic and exotic ruminants and swine. J. Vet. Med. B. 50:360-2
- Smith MC, Shermann DM. (2002) *Goat medicine*. Philadelphia: Saunders, 10: 298-302
- Songer JG. (1998) Clostridial diseases of small ruminants. Vet. Res. 29:219-232
- Srinivasan EVR, Muzamil SR, Anbu KA, Meignanasundar VS, Krishnamurthy A, Rajendran MP. (2001) Studies on the immunologic efficacy of a toxoid vaccine against enterotoxemia in sheep. Indian Vet J. July 78:579-582
- Uzal FA. (2004) Diagnosis of *Clostridium perfringens* intestinal infections in sheep and goats. Anaerobe 10. 135-143
- Uzal FA, Boder AV, Kelly WR, Nielsen K. (1998) Variability of serum antibody responses of goat kids to a commercial *Clostridium perfringens* epsilon toxoid vaccine. Vet Rec. 143:472-4
- Uzal FA, Glastonbury JRW, Kelly WR, Thomas R. (1997) Caprine enterotoxaemia associated with cerebral microangiopathy. Vet. Rec. 141:224-6
- Uzal FA, Kelly WR. (1996) Enterotoxaemia in goats. Vet Res Commun. 20(6):481-492.
- Uzal FA, Kelly<sup>1</sup> WR. (1998) Experimental *Clostridium perfringens* type D enterotoxaemia in goats. Vet Pathol. 35:132-140
- Uzal FA, Kelly<sup>2</sup> WR. (1998) Protection of goats against experimental enterotoxaemia by vaccination with *Clostridium perfringens* type D epsilon toxoid. Vet Rec. 142(26):722-5
- Uzal FA, Kelly WR, Morris WE, Bermudez J, Baison M. (2004) The pathology of peracute experimental *Clostridium perfringens* type D enterotoxemia in sheep. J Vet Diagn Invest 16:403-411
- Uzal FA, Kelly WR, Thomas R, Hornitzky M, Galea F. (2003) Comparison of four techniques for the detection of *Clostridium perfringens* type D epsilon toxin in intestinal contents and other body fluids of sheep and goats. J Vet Diagn Invest. 15(2):94-9
- Uzal FA, Pasini FV, Robles CA, Elizondo A. (1994) An outbreak of enterotoxaemia caused by *Clostridium perfringens* type D in goats in Patagonia. Vet Rec. 135:279-280
- Uzal FA, Rolfe BE, Smith NJ, Thomas AC, Kelly WR.<sup>1</sup> (1999) Resistance of ovine, caprine and bovine endothelial cells to *Clostridium perfringens* type D epsilon toxin in vitro. Vet Res Commun. 23:275-284
- Uzal FA, Wong JP, Kelly WR, Priest J.<sup>2</sup> (1999) Antibody response in goats vaccinated with liposome-adjuvanted *Clostridium perfringens* type D epsilon toxoid. Vet Res Commun. 23:143-149
- Van Metre DC, Tyler JW, Stehmann SM. (2000) Diagnosis of enteric disease in small ruminants. Vet Clin North Am Food Anim pract. 16(1):87-115
- Walker PD. (1992) Bacterial vaccines: old and new, veterinary and medical. Vaccine. 10(14):977-987

## **RESUME :**

Les entérotoxémies constituent une dominante pathologique en élevage ovin et caprin, provoquant une mort subite. L'agent étiologique majeur affectant les petits ruminants est *Clostridium perfringens*, mais l'expression clinique est très spécifique. La forme ovine est généralisée et nerveuse avec des lésions peu caractéristiques, liées à la toxémie. La forme caprine est digestive, avec de fréquentes lésions d'entérocolite. La maîtrise des facteurs de risque et la vaccination permettent de prévenir la maladie chez les ovins. L'efficacité vaccinale est très contestée chez les caprins, car la réponse vaccinale subit d'importantes fluctuations individuelles. Cette variabilité s'explique probablement par une différence de sensibilité aux toxines clostridiennes. La maladie est reproductible et modélisable sur animal vivant ou sur cellules épithéliales digestives, endothéliales vasculaires et nerveuses. Aucune étude à ce jour ne permet de mieux cerner les facteurs de sensibilité aux toxines.

Mots-Clés : ENTEROTOXEMIE / MORT SUBITE / ENTERITE / CLOSTRIDIUM / PERFRINGENS / TOXINE / CAPRIN / OVIN

## ENTEROTOXAEMIA : COMPARISON OF OVINE AND CAPRINE FORMS

**SURNAME : TREVENNEC Karen**

**SUMMARY :**

Enterotoxaemia is a major disease responsible for great losses in ovine and caprine production. The major aetiological agent of enterotoxaemia in small ruminants is *Clostridium perfringens*, but symptoms are specific. In ovine enterotoxaemia, clinical signs are systemic and nervous, while lesions are not characteristic and are linked with toxæmia. Enterotoxaemia in goats is characterised by digestive signs frequently associated with lesions of enterocolitis. A good control of risk factors and vaccination can allow preventing the disease in sheep. But the efficacy of vaccination remains controversial in goats, whereas the response to vaccination fluctuates importantly according to individuals. The variation is attributable to the difference in susceptibility to clostridial toxins. The disease is reproducible in living animals and models have been developed on epithelial digestive, endothelial vascular and nervous cells. To date, no study is available that could allow to better understand the factors contributing to susceptibility to clostridial toxins.

**Key words :** ENEROTOXAEMIA / SUDDEN DEATH / ENTERITIDIS / CLOSTRIDIUM / PERFRINGENS / TOXIN / CAPRINE / OVINE