

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE IBN KHALDOUN DE TIARET
INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES
DEPARTEMENT DE SANTE ANIMALE

PROJET DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE
DOCTEUR VETERINAIRE

SOUS LE THEME

*ENTEROTOXIMIE CHEZ LES OVINS ET LES
CAPRINS*

PRESENTE PAR :

Mr. BOUTAOUS Hichem
Mr. BOURAHLA Seyf-eddine

ENCADRE PAR :

Dr. OULD ALI Atika



DEDICACES

A ceux qui ont fait de moi ce que je suis et qui sont toujours présents pour me soutenir à tout moment.

A mon père et ma mère.

A mes frères et mes amis plutôt Abdelwahab, Chibani Djillali et Miloud Reus.

A mes sœurs en témoignage de leurs amours et de leurs encouragements continus.

A mes chères cousins Amine wave et Abdelkrim.

A mon chère ami El chikh Amigoss.

A mes amis Sifo, Abderrahim, Abdelkader, Oussama, Sedik, Taicha ibrahim, Djamel Younes, Rezki, Younes Bendahou, Kada mekaoui, Kada boumesteh,

benaiicha mohammed yacine.

A tous ceux qui m'aiment.

Hichem

DEDICACES

A ceux qui ont fait de moi ce que je suis et qui sont toujours présents pour me soutenir à tout moment.

A mon père et ma mère.

*A mes frères Amine, Abdelkader, Tarek, Azhar,
Hassane et Omar.*

*A mes sœurs en témoignage de leurs amours et de
leurs encouragements continus.*

*A mes amis Hichem, Djillali Chibani, Kamel,
Abderrahim, Sedik, Taicha Ibrahim, Younes,
Ahmed, Yahia.*

A tous ceux qui m'aiment.

Sejf-eddine

Remerciements

Je tiens à remercier tout d'abord ALLAH qui m'a donné La force, le Courage et la patience durant mes études pour arriver à ce jour là.

Je remercie ensuite mon encadreur Dr. Ould Ali Atika pour son aide et ses nombreux conseils.

Au Docteur Bía taha, étudiant en Magistère, qui a pratiquement contribué dans toutes les étapes de réalisation de ce travail.

Je remercie à tout de près ou de loin qui ont pratiqué dans la réalisation de ce travail.

Mes remerciements vont également à tous les enseignants d'institut des sciences vétérinaire-IBN KHALDOUN- TIARET.

Enfin, je remercie tous mes amis pour leurs aides, leurs patiences, leurs compréhensions et leurs encouragements.

SOMMAIRE

Introduction	01
I. Généralité sur le genre Clostridium	03
I.1 Classification phylogénique	03
I.2 Définition	03
I.3 Historique	04
II. Etude de la bactérie	06
II.1- Les agents responsables d'entérotoxémie chez les petits ruminants	06
II.1.1- Caractères généraux des bactéries du genre clostridium	06
II.1.1.1- Principales caractéristiques microbiologiques de Clostridium perfringens	07
II.1.1.1.1- Morphologie et structure	07
II.1.1.1.1.1- Cellule végétative	07
II.1.1.1.1.2- Spores	08
II.1.1.1.2-Caractères bactériologiques de C.perfringens	08
II.1.1.1.2.1- Milieux spéciaux	10
II.1.1.1.2.2-Sensibilité aux antibiotiques	10
II.1.1.1.2.3. Sensibilité aux antiseptiques et désinfectants	11
II.1.1.2- Clostridium septicum	11
II.1.1.2.1-Caractères cultureux du C. septicum	12
II.1.1.3- Clostridium Sordellii	14
II.1.1.3.1-Caractères cultureux du C. sordellii	15
III. Facteurs de virulence et pathogénicité	17

SOMMAIRE

III.1. Habitat et pouvoir pathogène	17
III.1.1- Clostridium perfringens	17
III.1.1.1- Classification de Clostridium Perfringens	17
III.1.1.1.1- Classification en toxinotypes	17
III.1.1.1.2-Action des exotoxines sur les sites cibles infectés	19
a- Lyse des tissus	19
b- Augmentation de la perméabilité intestinale	19
c- Intoxication	20
III.1.1.1.3- Infections et bactériémies impliquant Clostridium Perfringens	20
III.1.1.1.2.1-Toxine α (phospholipase C)	20
a-cytotoxicité	21
b-Action sur les intestins	21
c-Action dans l'organisme	21
III.1.1.1.2.2-Toxine β1	21
III.1.1.1.2.3- Toxine β2	22
III.1.1.1.2.4- T oxine ϵ	23
a-Cytotoxicité	23
b-Action sur les cellules nerveuses	23
c-Conséquences lésionnelles dans l'intestin et dans l'organisme	23
III.1.1.1.2.5- Toxine ι	24
III.1.1.1.2.6- Toxine δ	24

SOMMAIRE

1.1.1.2.7- Entérotoxine	24
III.1.2-Clostridium septicum	25
III.1.2.1-Les toxines de C. Septicum	25
III.1.2.1.1-Toxine α	25
III.1.2.1.2-La toxine β	26
III.1.3-Les toxines de Clostridium sordellii	26
III.1.3.1-- Toxine HT	26
III.1.3.2- Toxine LT	26
III.1.3.3- Rôle dans la pathogénie	27
IV : Epidémiologie	29
IV.1- Epidémiologie descriptive	29
IV.1.1. Espèces sensibles et répartition géographique	29
IV.1.2--répartition géographique	30
IV.1.3- l'importance de la maladie	30
IV.1.4- Forme épidémiologique	31
IV.1.5- Catégories d'animaux atteints	31
IV.2.Epidémiologie analytique	32
IV.2.1. sources	32
IV.2.1.1 Les sols	32
IV.2.1.2 Le tractus digestif des animaux	33
IV.2.1.3-Ecologie digestive	33

SOMMAIRE

IV.2.2. Contamination	34
IV.2.2.1 Contamination par <i>C. perfringens</i>	34
IV.2.2.2 Contamination par <i>C. sordellii</i> et <i>C. septicum</i>	34
IV.2.3.Facteurs de risque	35
IV.2.3.1 Atonie intestinale	35
IV.2.3.2- sensibilité spécifique	37
IV.2.3.4- Age	38
V : Etude clinique	40
V.1-Symptômes	40
V.1.1- Entérotoxémie à <i>C. perfringens</i> type A	40
V.1.2-Entérotoxémie à <i>C.perfringens</i> type B	40
V.1.3 - Entérotoxémie à <i>C. perfringens</i> type C	41
V.1.4- Entérotoxémie à <i>C. perfringens</i> type D	42
V.1.4.1- Entérotoxémie de type D des ovins	42
V.1.4.2- Enterotoxemie de type D des caprins	43
V.1.4.2.1-forme suraigüe	43
V.1.4.2.2-forme aigue	43
V.1.4.2.3-forme chronique	44
V.1.5-Entérotoxémie à <i>C. perfringens</i> type E	45
IV.1.6- Entérotoxémie à <i>C. sordellii</i>	46
V.1.6.1-Caractéristiques cliniques	46

SOMMAIRE

V.1.7-Entérotoxémie à C. septicum	47
V.3.Lésions	48
V.3.1.Etude macroscopique	48
V.3.1.1.Entérotoxémie de type A, maladie de l'agneau jaune	48
V.3.1.2. Entérotoxémie de type B	48
V.3.1.3. Entérotoxémie de type C	49
V.3.1.4 Entérotoxémie de type D	49
1) Forme ovine	49
2) Forme caprine	52
VI : Diagnostic	54
VI.1-Prélèvement	54
VI.1.1 Tractus et contenu digestif	54
VI.1.2 Urine	55
VI.1.3 Liquide péricardique	55
VI.1.4 T issus et autres sérosités	55
VI.2.Méthodes diagnostiques	56
VI.2.1 Etude bactériologique	56
1) I dentification	56
1)1- Dénombrement	57
1.2- Le typage	58

SOMMAIRE

1.2.1- Mouse Neutralization Test (MNT)	58
1.2.2-ELISA sur contenu intestinal	58
<i>1.2.2.1-Toxine α</i>	<i>58</i>
<i>1.2.2.2- Toxine ϵ</i>	<i>59</i>
<i>1.2.2.3- Toxine β</i>	<i>59</i>
1.2.3-Agglutination sur bille de Latex	59
1.2.4- PCR (Polymère chain réaction)	59
VI.1.3-L'identification directe par coloration des bactéries in situ	60
VII : Moyens de lutte	61
VII.1. Traitement	61
VII.1.1.Mesures hygiéniques	61
VII.1.2.Mesures médicales	61
VII.1.2.1 Traitement symptomatique	61
VII.1.2.2 Antibiothérapie	61
VII.1.2.3 Sérothérapie	62
VII.1.2.4 Phytothérapie	62
VII.2.Prophylaxie	63
VII.2.1.Maitrise des facteurs de risque	63
VII.2.2.vaccination	63
VII.2.2.1- Choix de l'adjuvant	63
VII.2.2.2-Les vaccins les plus utilisés	64

SOMMAIRE

VII.2.2.3-Innocuité de la vaccination	66
1- Réaction d'hypersensibilité	66
VII.2.2.4 Efficacité de la vaccination	66
1) Taux d'anticorps pré-vaccinal	66
Conclusion	69
Références bibliographiques	70

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAUX :

Tableau I.1: Classification des espèces de <i>Clostridium</i>	4
Tableau II.1: Caractères culturels de base	9
Tableau II.2: Caractères principaux sur milieux de culture et identification	16
Tableau III.1: Toxines de <i>C.perfringens</i>	18
Tableau III.2: Principales maladies dues à <i>C. perfringens</i> chez les ovins et les caprins: classification toxinogénique	19
Tableau III.3: Age approximatif de la sensibilité	28
Tableau IV.1: Maladies associées aux divers toxinotypes (classification traditionnelle) de <i>C. perfringens</i> , espèces cibles, répartition	29
Tableau IV.2: Fréquence relative des agents étiologiques d'entérotoxémie en fonction de l'âge chez les ovins et les caprins	31
Tableau V.1: Etude clinique de l'entérotoxémie type D chez les ovins et les caprins. Fréquence relative des symptômes décrits dans la bibliographie	44
Tableau VI.1: Présence et valeur diagnostique de <i>Clostridium</i> dans l'intestin des petits ruminants.....	57

LISTE DES FIGURES

FIGURES :

Figure II.1: <i>C. perfringens</i> , forme végétative	7
Figure II.2 Colonies β hémolytiques, colonies α hémolytiques	9
Figure II.3- <i>Clostridium Septicum</i>	12
Figure II.4- (National Library of Medicine, 2013).....	12
Figure II.5-. Coloration de Gram de <i>Clostridium septicum</i> , à partir de l'évolution de la culture de l'infection des tissus mous.....	13
Figure II.6- coloration de Gram de <i>Clostridium septicum</i> de tampon de tissus mous, avec des flèches montrant endospores.....	13
Figure II.7. Anaérobie culture sur gélose au sang de tige chirurgicale, qui a grandi un film ou un essaim de <i>Clostridium septicum</i> dans les 24 heures	14
Figure II.8- Les résultats histopathologiques des spécimens de tissus prélevés sur le site de l'infection d'un patient à l'infection à <i>Clostridium sordellii</i> fatale, de nombreux bacilles à Gram positif (flèches) et des cellules inflammatoires en dégénérescence sont apparentes dans le tissu (hématoxyline et éosine, grossissement original x 100). infectious diseases	15
Figure III.1. Espèce de <i>Clostridium</i> . Sang isolement Agar en anaérobiose, examiné en lumière transmise, où une zone entourée colonies à double hémolyse sont observées, en raison des α et β toxines produites par <i>C. perfringens</i> , Source: © Institut pour perfringens Veterinar Mikrobiologi <i>Clostridium</i>	22
Figure V. 1: Mécanisme d'action de <i>Clostridium perfringens</i>	45
Figure V.2: cas d'entérotoxémie. Mort subite chez les ruminants: L'attitude du cadavre peut faire suspecter des troubles nerveux et un gène abdominal avant la mort.....	46

Figure V.3: Entérotoxémie ovine. Jéjunum hémorragique	50
Figure V.4: Entérotoxémie ovine. Entérite hémorragique	50
Figure V.5: Entérotoxémie ovine. Congestion hépatique	51
Figure V.6: Entérotoxémie ovine. Reins pulpeux	52
Figure V.7: Entérite hémorragique	53

Introduction

Les anaérobies sont des germes ubiquitaires qui peuvent être responsables de nombreuses affections des petits ruminants.

Parmi celles-ci, il convient de citer les infections clostridiales et, en premier lieu, l'entérotoxémie qui surprend souvent les éleveurs par son caractère assez imprévisible et son issue régulièrement fatale et dont la fréquence augmente avec les méthodes d'élevage intensif. Les entérotoxémies sont donc des toxi-infections dues à l'action de bactéries présentes dans l'environnement (du genre *Clostridium*) dont les toxines sont responsables de troubles graves apparaissant très rapidement. Les toxines traversent la paroi intestinale et créent des lésions le plus souvent irréversibles au niveau de différents organes (foie, rein, rate...). Ce sont ces lésions qui expliquent l'évolution rapide vers la mort de l'animal.

On distingue plusieurs formes différentes en fonction des symptômes: diarrhée hémorragique, perte d'appétit, affaiblissement des animaux, ulcères de la caillette et des intestins, troubles nerveux (crises de convulsion, mauvaise coordination motrice...) ... jusqu'à la mort très brutale sans signes apparents. Il est en fait délicat devant la diversité des symptômes possibles d'être certain du diagnostic sur animal vivant et encore moins de savoir quel type de germe est en cause puisqu'il existe une grande variété d'espèce de Clostridies (Vermesse, 1996).

En plus 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, en provoquant de lourdes pertes économiques aux producteurs à cause de la réduction de gains de poids, et de la capacité de conversion des aliments, du retard dans la vente des animaux et le coût élevé des programmes préventifs et thérapeutiques. Les bouchers et les industriels de la viande paient également un lourd tribut à cause de la saisie des abats et des carcasses du circuit commercial en vue de préserver la santé publique (Jensen et Mackey, 1979 ; Slocombe, Derksen et Robinson, 1984 ; Salah et El-Baby, 1998).

C'est dans ce contexte que nous avons jugé utile de faire une recherche bibliographique sur cet affection tant chez les ovins que les caprins. 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

Introduction

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.

Chapitre I :
Généralités sur le
Genre Clostridium

I. Généralités sur le genre *Clostridium***I.1. Classification phylogénique**

- **Domaine** : *Bactéria* ou *Eubactéria*.
- **Phylum XIII** : Firmicutes ou bactéries à Gram⁺, C % faible.
- **Classe II** : *Clostridia*.
- **Ordre I** : Clostridiales.
- **Familles** : 19 familles dont la famille I des *Clostridiaceae*.
- Dans la famille des *Clostridiaceae* : 13 genres dont le genre *Clostridium*.

Le genre *Clostridium* est considéré comme l'un des plus riches dans le monde bactérien (Céline, 2007).

On recense en effet plus de 150 espèces de *Clostridium* parmi lesquelles un nombre limité est retrouvé dans les prélèvements biologiques et est à l'origine de pathologie chez l'homme et les animaux ; Le séquençage des gènes codant l'ARN ribosomal 16s par méthode PCR a permis à Collins et al. De confirmer l'extrême hétérogénéité du genre (Trevenec, 1994).

I.2. Définition

Initialement décrit en 1880 par Prazmowski les espèces *Clostridium* sont des bacilles sporulés, anaérobies stricts voire aéro-tolérants pour certaines espèces, apparaissant habituellement Gram positif et généralement mobiles.

La tolérance à l'oxygène varie selon les espèces de *Clostridium* ; certaines d'entre elles sont anaérobies très strictes tel *C. novyi* ou *C. haemolyticum* alors que d'autres sont aérotoférantes tel *C. tertium* et *C. histolyticum* ; de nombreuses espèces ont des exigences (Leonhart, 2004).

Certains auteurs proposent de séparer les espèces *Clostridium* en deux groupes de signification clinique différente.

- Le premier comporte des espèces telluriques qui pénètrent accidentellement

Dans l'organisme et sécrètent des exotoxines responsables de la pathogénicité.

- Le deuxième regroupe les autres espèces de *Clostridium* qui appartiennent à la flore endogène et peuvent engendrer des infections souvent mixtes en association avec d'autres anaérobies voire avec des bactéries anaérobies facultatives (Céline, 2007). (Tableau I.1).

Tableau I.1. Classification des espèces de *Clostridium* (Céline. R, 2007)

Principales espèces de <i>Clostridium</i> sécréteurs de toxines
<i>Clostridium botulinum</i> (A, B, C, D, E, F, G)
<i>Clostridium tetani</i>
<i>Clostridium perfringens</i> (A, B, C, D, E)
<i>Clostridium perfringens</i> (A, B, C, D, E)
<i>Clostridium difficile</i>
<i>Clostridium septicum</i>
<i>Clostridium sordellii</i>

Cette classification a cependant des limites puisque l'on peut mettre en évidence dans certains prélèvements des espèces de *Clostridium* non toxigènes d'origine exogène et qu'il existe des espèces de *Clostridium* toxigènes dans le tube digestif; c'est le cas par exemple de *Clostridium perfringens* et *Clostridium difficile* qui sont tous deux sécréteurs de toxines et survivent dans l'environnement sous forme sporulée mais peuvent aussi se multiplier dans le tube digestif (Céline, 2007).

I.3- Historique

Si le genre *Clostridium* ne fut décrit que vers la fin du XIX^{ème} siècle, l'homme fut confronté à ce genre bien avant cette époque-là et probablement dès qu'il tenta de conserver ses aliments.

- *Clostridium perfringens* a été décrit par Welch et Nuttal en 1892. Veillon et Zuber l'isolent chez des patients avec appendicites gangréneuses ; son rôle pathogène dans la gangrène gazeuse a été rapporté par Weinberg lors de la Première Guerre Mondiale.

Responsable de toxi-infection, connu depuis l'Antiquité et retrouvé dans les écrits d'Hippocrate (Céline. R, 2007).

- *Clostridium sordellii* a été isolé pour la première en 1922 par le microbiologiste argentin Alfredo Sordelli, qui l'a nommée *Bacillus oedematis sporogènes* sur la base de sa morphologie et du net œdème des tissus caractéristique de l'infection.

Sordellii Bacillus En 1927, l'organisme a été rebaptisé. Deux ans plus tard, elle s'est révélée être identique à oedematoides *Clostridium*, et le nom de *C. sordellii* est adopté. Similitudes dans la morphologie et le profil biochimique suggéré que *C. sordellii* était tout simplement une souche virulente de *Clostridium bifermentans* ; toutefois, la production de l'uréase par *C. sordellii* distingue clairement les deux espèces

À la fin des années 1970, l'antitoxine *C. sordellii* n'a été trouvée pour neutraliser l'effet cytotoxique des échantillons de selles recueillies auprès de patients atteints de colite pseudomembraneuse associée à *Clostridium difficile*. Il a été démontré plus tard que les isolats virulents des deux espèces produites une cytotoxine commun (Aldape,2006).

- ***Clostridium septicum***. C'est la première espèce de *Clostridium* toxigène isolée par Pasteur en 1877. Les infections à *Clostridium septicum* restent les plus fréquentes après celles impliquant *C.perfringens*. Cette bactérie produit un certain nombre de toxines dont l'a-toxine qui est responsable d'hémolyse et de gangrène. Elle est rarement isolée des selles ou dans les hémocultures d'individus bien portants ; en revanche, elle est souvent associée à une néoplasie sous-jacente, la porte d'entrée présumée de la bactérie dans le sang étant la région iléo-caecale (Céline ,2007).

Chapitre II :
Etude de la bactérie

II. Etude de la bactérie**II.1- 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 telle que *Escherichia coli*, mais leur prévalence est faible. *Clostridium* est un bacille Gram positif, anaérobie, tellurique et capable de sporuler (Celine, 2007).

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

Synonyme: *C. welchii*, *enteritis necroticans* (Trevenec, 1994)

- ***Clostridium sordellii***

Responsable de mort subite chez les ruminants par toxi-infection d'origine intestinale ou autre (Génitale).

Synonyme : *Bacillus oedematis sporogenes*, *Bacillus sordellii* (Trevenec, 1994)

- ***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 (Trevenec, 1994).

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> .

II.1.1- Caractères généraux des bactéries du genre clostridium

Toutes les bactéries du genre *Clostridium* sont de gros bacilles à Gram positif qui peuvent donner des spores plus larges que le diamètre des bacilles. La plupart des espèces sont mobiles et possèdent des flagelles péritriches.

Les bactéries du genre *Clostridium* ne poussent qu'en anaérobiose, soit sur boîtes de Pétri placées dans des enceintes anaérobies (jarres anaérobies), soit dans des bouillons contenant des agents réducteurs.

Dans ce dernier cas, la culture ne se fait qu'en profondeur. Sur gélose au sang, placée en anaérobiose, certaines espèces donnent de grandes, d'autres de petites colonies. La plupart des

colonies sont *hémolytiques*. La caractéristique principale des bacilles anaérobies est non seulement leur incapacité à utiliser l'oxygène comme accepteur final d'hydrogène mais encore leur incapacité à se multiplier en présence d'oxygène. Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer ce phénomène : les bacilles anaérobies n'ayant pas de catalase, le peroxyde d'hydrogène, qui est toxique, s'accumule dans leur cytoplasme en présence d'oxygène ; ou encore, n'ayant pas de superoxyde dismutase, le superoxyde s'accumule et devient toxique. On a suggéré aussi que les réactions métaboliques ne pouvaient avoir lieu qu'à un potentiel d'oxydo-réduction négatif (PCEM 1,2003).

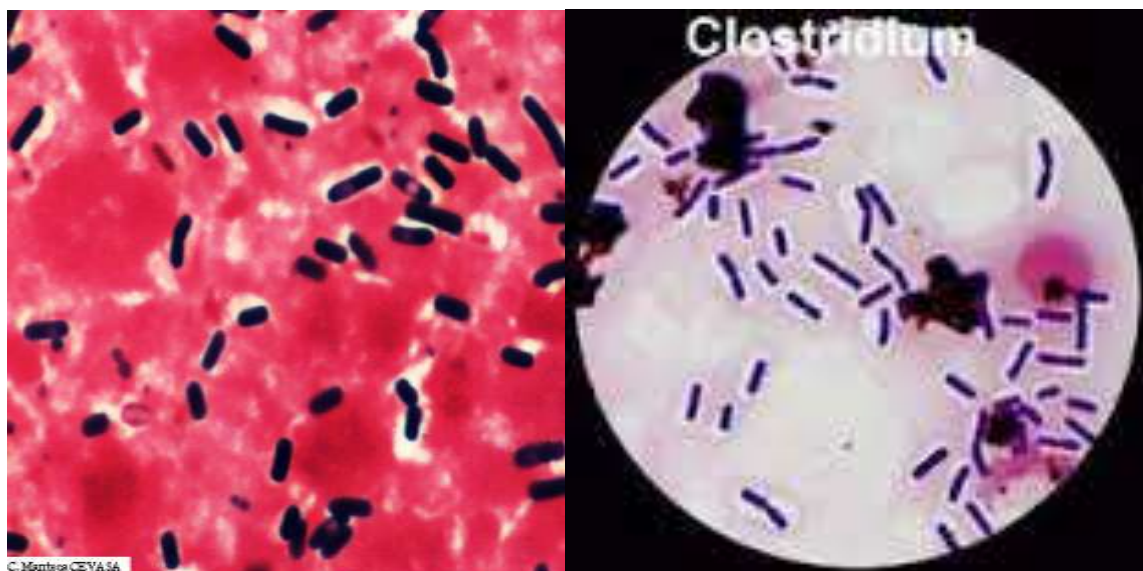
II.1.1.1- Principales caractéristiques microbiologiques de *Clostridium perfringens*

II.1.1.1.1- Morphologie et structure

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.

II.1.1.1.1.1- 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, immobile car dépourvu de flagelle contrairement aux autres *clostridium* (Figure I.1)(Afssa, 2006). *Clostridium perfringens* possèdent une capsule. Anaérobie strict mais aérotolestants.



FigureII.1 : *C. perfringens*, forme végétative (Manteca, 2005).

- *Clostridium septicum* est l'espèce de *Clostridium* la plus fréquemment isolée en cas d'infection des tissus et de bactériémie (présence de bactéries dans le sang) après *Clostridium perfringens*.

II.1.1.1.2- Spores

La forme sporulée est une forme de résistance à la chaleur, aux rayons ultra-violet, 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 (Leonhart 2004).

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).

C. perfringens sporule rarement dans les milieux usuels de culture, uniquement dans des milieux spéciaux de sporulation, mais sporule assez facilement dans un milieu naturel (intestin, sol) (Afssa, 2006).

II.1.1.1.2-Caractères bactériologiques de *C.perfringens*

C.perfringens se distingue des autres Clostridia par son *immobilité* et l'existence d'une *capsule*. En culture, il est fortement hémolytique et produit une quantité importante de gaz par fermentation (gangrène gazeuse !). Les sulfites sont réduits (colonies noires en présence de sulfite de sodium et d'alun de fer). *C. perfringens* est glucidolytique (acidification notamment du glucose, lactose, et maltose) et protéolytique (DCEM1 ,2003).

Il secrète une exotoxine protéique qui est une phospholipase (lécithinase) qui désorganise les membranes cellulaires, en particulier musculaires. Cette toxine est aussi une hémolysine. Elle est antigénique. *C.perfringens* secrète également une désoxyribonucléase (DNase), une hyaluronidase et une collagénase dont l'action favorise l'extension de l'infection à *C.perfringens*. Enfin, certaines souches, responsables d'intoxication alimentaire, secrètent une entérotoxine, thermolabile, voisine de l'entérotoxine d'*E.coli* (DCEM1 ,2003).

Il existe des milieux sélectifs avec antibiotiques, où les colonies sont plates, irrégulières, hémolytiques (l'hémolyse ou lyse des hématies est due à la rupture de leur membrane plasmique, souvent sous l'action de phosphatidyl-choline estérase des bactéries et sous l'action de molécules provoquant la formation de pores membranaires (hémolysine) Ce phénomène libère de l'hémoglobine qui est ensuite plus ou moins digérée. Si la **digestion est totale, la couleur rouge disparaît** et on observe une zone éclaircie (hémolyse partielle), voir incolore (hémolyse complète) autour de la colonie. On parle alors **d'hémolyse β** . La digestion

peut être **incomplète** et il se forme **des produits verdâtres ou marron** (dont la méthémoglobine) et on parle **d'hémolyse α** (Trevennec, 1994).

Les colonies de *C. perfringens* sont plates, brillantes et irrégulières. Placées 1 heure à 4°C, elles créent une double hémolyse: un premier halo d'hémolyse totale (toxine θ ou perfringolysine) débordant peu la colonie et un second halo de grand diamètre d'hémolyse partielle (toxine α). Opalescence sur milieu avec du jaune d'œuf due à l'activité phospholipase C de la toxine α (Afssa, 2006).

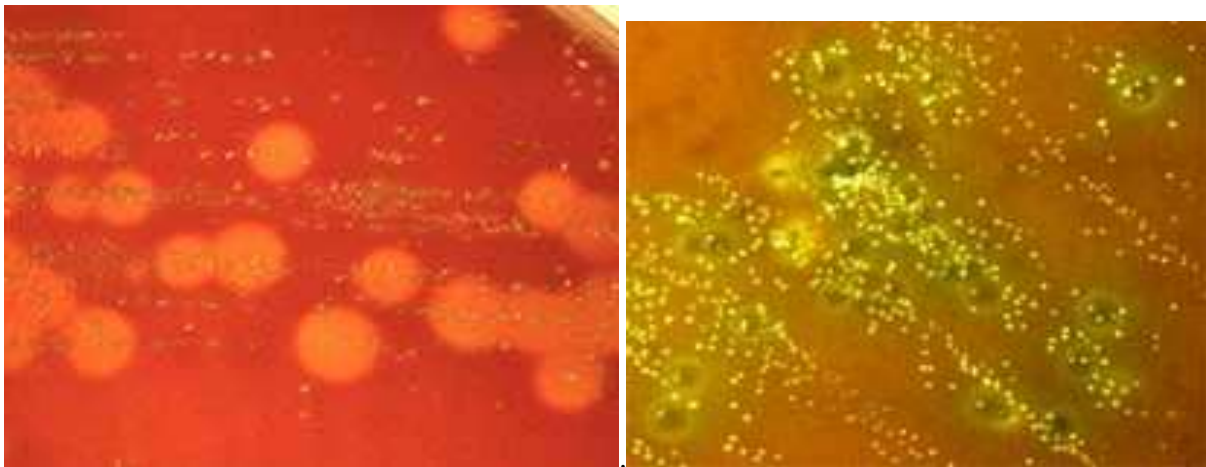


Figure II.2 Colonies β hémolytiques colonies α hémolytiques (DCEM1, 2003)

Si boîte reste 1h à 4°C après la semence il y'aura la formation de 2 halos d'hémolyse : hémolyse complète au contact de la colonie + 1 halo trouble de lyse incomplète (hémolyse α) (figure II.2).

Tableau II.1Caractères cultureux de base (Trevennec, 1994)

	Clostridium perfringens	Clostridium septicum	Clostridium Sordellii
Gélatinase	-	+	+
Lécitinase	+	-	+
Glucose	+	+	+
Indole	-	-	+
Lipase	-	-	-
Lactose	+	+	-

II.1.1.1.2.1- Milieux spéciaux

Le milieu TSN® contient des antibiotiques (néomycine polymyxine) et du citrate de fer permettant la mise en évidence du pouvoir sulfito-réducteur. *C. perfringens* a une production abondante d'H₂S 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).

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*.

II.1.1.1.2.2-Sensibilité aux antibiotiques

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.

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

- **Les Bétalactamines**

Les pénicillines sont plus efficaces sur *Clostridium perfringens* que les céphalosporines. Les résistances aux pénicillines sont rares et la production de β-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.

- **Clindamycine**

La résistance à la clindamycine est rarement observée chez *C. perfringens*.

- **tétracycline**

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*.

- **Chloramphénicol**

Cet antibiotique est actif in vitro sur la plupart des souches de *Clostridium* spp. . Des gènes de résistance codant un chloramphénicol acétyltransférase ont été caractérisés chez *C. perfringens*.

Ces gènes sont dénommés *catP*, qui code une acetyl-transférase. Un autre gène peut être incriminé : *catQ*. Il est encore plus rare que *catP*.

- **Métronidazole**

Le métronidazole est un antibiotique qui reste très efficace sur les *Clostridium* spp.

La résistance au métronidazole a été décrite de façon exceptionnelle chez *C. perfringens*.

- **Glycopeptides**

Les *Clostridium* spp. sont considérés comme sensibles aux glycopeptides qui peuvent être utilisés en cas d'échec du métronidazole

Stinear et al. ont montré que certaines espèces appartenant au genre *Clostridium* pouvaient être porteuses du gène *vanB* qui confère la résistance à la vancomycine ; ces bactéries, hôtes de la flore anaérobie du tube digestif constituent un réservoir potentiel de gènes de résistance aux glycopeptides qui peuvent être transférables à des souches d'entérocoques, ces derniers pouvant ensuite être sélectionnés et proliférer après pression des antibiotiques.

- **macrolides, lincosamides**

Le gène de résistance à l'érythromycine est actuellement dénommé *ermB* (Erythromycine Resistance Methylase). Il permet la synthèse d'une méthylase qui provoque la diméthylation de l'ARNr 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*.

II.1.1.1.2.3. 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).

II.1.1.2- *Clostridium septicum*

C. septicum est un bacille plus fin et plus court. Il est mobile. Les bactéries peuvent être isolées, liées 2 par 2 ou en amas. *Clostridium septicum* est un gram positif, formant des spores, anaérobie strict. Peut causer la gangrène gazeuse, provoque myonécrose par la libération de exotoxines tels que la toxine alpha, toxine mortelle, et la toxine hémolytique.

II.1.1.2.1-Caractères cultureux du *C. septicum*

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



Figure II.3-*Clostridium Septicum*. (Microbe wiki, 2010)

Clostridium septicum

Left: A few spores are seen among the vegetative form of bacteria.

Middle: The bacteria with a spore has no swelling as those seen in the *Clostridium septicum* or *Clostridium perfringens*.

Right: The basic structures of the spores such as core, cortex, and coats are similar, but the structure of the outer spore coat is different from each other. Flagella (arrows) are seen among the bacteria

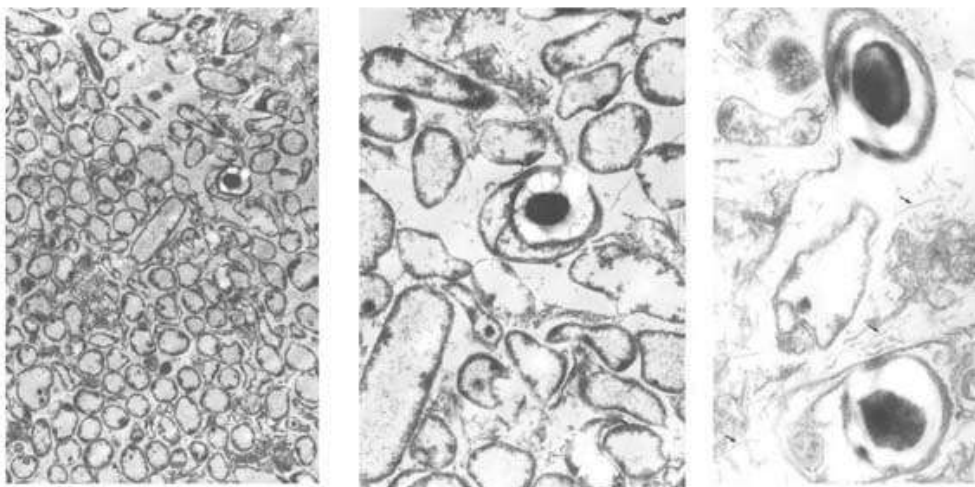


Figure II.4- (National Library of Medicine, 2013)

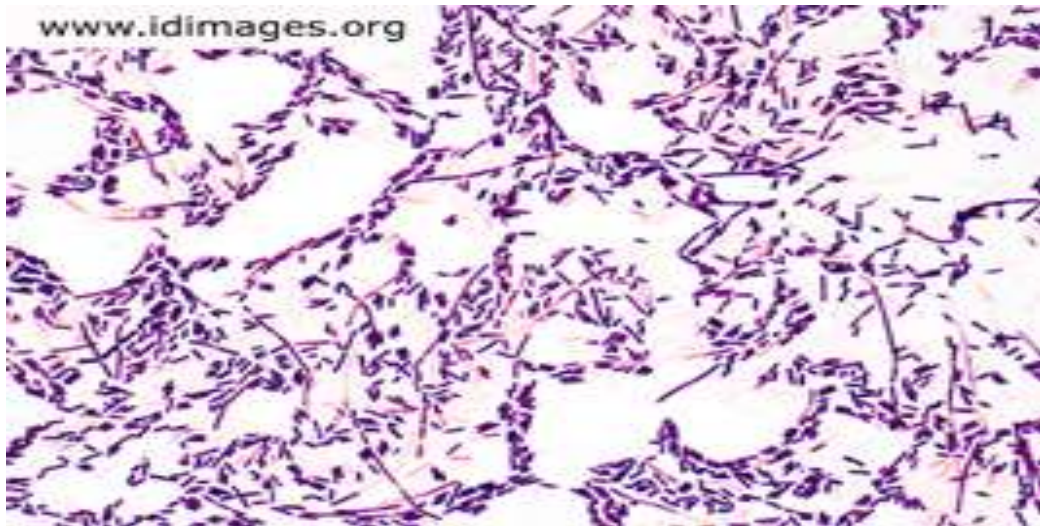


Figure II.5-. Coloration de Gram de *Clostridium septicum*, à partir de l'évolution de la culture de l'infection des tissus mous. (National Library of Medicine, 2013)



Figure II.6- coloration de Gram de *Clostridium septicum* de tampon de tissus mous, avec des flèches montrant endospores. (National Library of Medicine, 2013)



Figure II.7. Anaérobie culture sur gélose au sang de tige chirurgicale, qui a grandi un film ou un essaim de *Clostridium septicum* dans les 24 heures (Copyright © 2014 - L'encyclopédie libre)

II.1.1.3- *Clostridium Sordellii*

C. sordellii est une bactérie en bâtonnet ou bacille plus fin et plus court, anaérobie strict. Il est mobile avec flagelles péritriches. In vivo, *C. septicum* forme de longues chaînes (Latour 2004). Les colonies apparaissent translucides à opaques avec de petites zones d'hémolyse β mouton ou de lapin sur gélose au sang.

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

La bactérie se trouve couramment dans le sol et dans les intestins des animaux. Les souches virulentes causent des infections mortelles chez plusieurs espèces animales, telles que l'entérite et entérotoxémie chez les ovins et les bovins et myonécrose et la gangrène chez les humains (tableau III. 1). La virulence est attribuée à de nombreux exotoxines, bien que seulement deux des toxines mortelles et hémorragiques, ont été étudiées (Aldape et al, 2006)

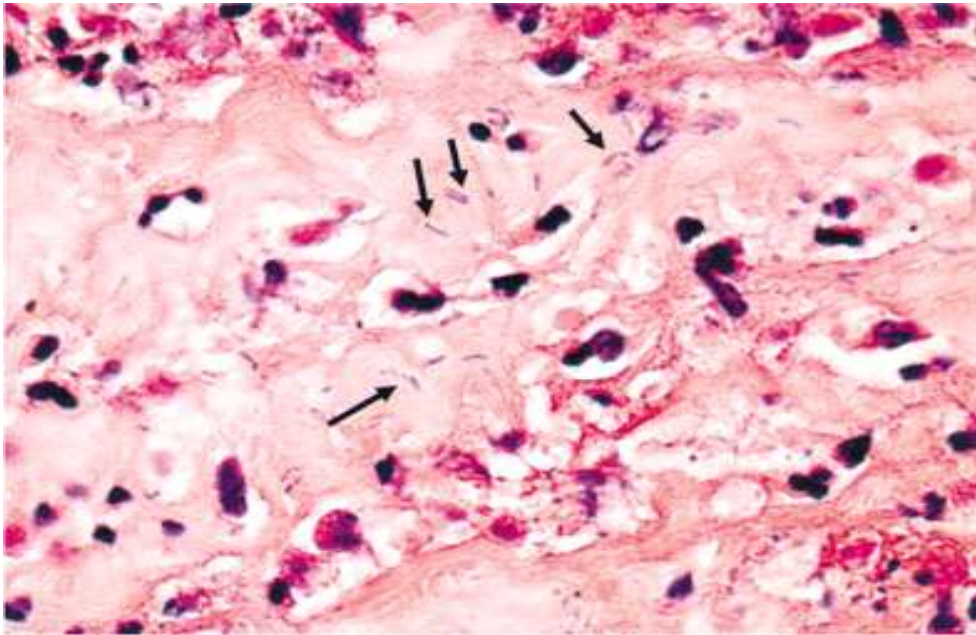


Figure II.8-Les résultats histopathologiques des spécimens de tissus prélevés sur le site de l'infection d'un patient à l'infection à *Clostridium sordellii* fatale. De nombreux bacilles à Gram positif (flèches) et des cellules inflammatoires en dégradation sont apparentes dans le tissu (hématoxyline et éosine, grossissement original x 100). (Copyright c 2015 infectious diseases society of America).

II.1.1.3.1-Caractères cultureux du *C. sordellii*

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

Tableau II.2.Caractères principaux sur milieux de culture et identification (Poncelet, 2002)

bactéries	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Clostridium septicum</i>	<i>Clostridium sordellii</i>
gram	+	+	+
Morphologie des spores	Ovales ou sphériques déformantes, résistantes aux facteurs physico-chimique (thermorésistantes)	Ovales ou sphériques déformantes, résistantes aux facteurs physico-chimique (thermorésistantes)	Ovales ou sphériques déformantes, résistantes aux facteurs physico-chimique (thermorésistantes)
mobilité	Immobilés	mobiles à flagelles péritriches	mobiles à flagelles péritriches
Type respiratoire	Anaérobie stricte	Anaérobie stricte	Anaérobie stricte
catalase	négative-	négative-	négative-
Température optimale	45 °C		
Caractères spécifique	saccharolytique, protéolytique...suivant les espèces ;ne réduisent pas les sulfates en H ₂ S		
Milieux de culture pour bactéries	Bouillon de Schaedler+vitaline K et bouillon de Schaedler gélosé 0,02%+vit K bio MérieuxR SA Bouillon thioglycolate avec résazurine Bouillon thioglycolate avec résazurine Gélode viande-foie-sulfite-fer et gélose TSC Bio-Rad ; gélose sulfite de fer bio MérieuxR Gélose Schaedler avec 5% de sang de mouton bio MérieuxR SA...		

Chapitre III :
Facteurs de virulence
Et pathogénicité

III.1. Habitat et pouvoir pathogène

La plupart des *Clostridium* sont pathogènes pour le bétail et la faune. Les bactéries appartenant à ce genre sont largement répandues dans l'environnement où elles survivent grâce à leurs spores; on les retrouve dans le sol, les eaux, les sédiments marins, les végétaux et les cadavres d'animaux en décomposition.

Certaines espèces sont rencontrées dans la flore digestive normale des animaux et de l'homme (10^3 à 10^9 bactéries par gramme de selles) (Céline, 2007).

III.1.1- *Clostridium perfringens*

Clostridium perfringens est 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 ces conditions, les bactéries peuvent se multiplier et générer une infection dans n'importe quel tissu de l'organisme, tel que 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 (Latour 2004).

III.1.1.1- Classification de *Clostridium Perfringens*

III.1.1.1.1- Classification en toxinotypes

C. perfringens produit et secrète de nombreuses toxines (17 toxines) et enzymes hydrolytiques (Maaroufi, 2000). Chez les ovins, cette espèce bactérienne est considérée comme étant le principal agent causal des entérotoxémies. La virulence de *C. perfringens* est associée à la production de différentes exotoxines. Quatre d'entre elles (α , β , ϵ , ι) sont appelées « toxines létales majeures », car elles entraînent la mort de la souris après injection I.V. ou I. P (Poncelet, 2002).

Les souches de *C. perfringens* sont classées en 5 toxinotypes (A, B, C, D, E) suivant la combinaison des toxines létales majeures produites (Poncelet, 2002).

Ces Cinq types de *C. perfringens* sont ainsi définis dans la classification de Wildson, datant de 1933 et encore souvent utilisée aujourd'hui (Tableau II).

On utilise donc une classification phénotypique (Maaroufi et al, 2000)

Selon les principales toxines produites, les souches de *C. perfringens* sont classiquement classées en 5 toxinotypes, mais le typage génétique montre une plus grande diversité des souches.

- Type A: souches produisant toxine α , et parfois entérotoxine et/ou β_2
- Type B: souches produisant toxines α , β_1 , ϵ

- Type C: souches produisant toxines α , β_1 , et/ou β_2
- Type D: souches produisant toxines α , ϵ
- Type E: souches produisant toxines α , ι
- L'entérotoxine peut être produite par des souches de type A, mais aussi par des souches des autres types. Environ 6-8% des souches de toute origine possèdent le gène de l'entérotoxine.

Contrairement aux spores, l'entérotoxine est thermolabile. Elle est détruite en solution saline par un chauffage de 5 min à 60°C (AFFSA ,2006).

Tableau III.1. Toxines de *C.perfringens* (Poncelet, 2002)

Toxinotypes	alpha	bêta	epsilon	iota
A	++	-	-	-
B	+	++	+	-
C	+	++	-	-
D	+	-	++	-
E	+	-	-	++

- La toxine *alpha*, est une protéine hémolytique de 43 KD, synthétisée par toutes les Souches de l'espèce *Cl. Perfringens*.
- La toxine *bêta*, codée par un gène plasmidique, est un polypeptide de 40 KD, Synthétisée par les types B et C, et inactivée par la trypsine 7.
- La toxine *epsilon* est une chaîne polypeptidique sécrétée sous forme de prototoxine Inactive de 34 KD. Elle est codée par le gène *etx* porté par un plasmide qui n'existe que chez *Cl. Perfringens* types B et D Cette toxine, létale et nécrosante, est responsable, après activation par la trypsine, d'une entérotoxémie dite maladie du « rein pulpeux » des ovins.
- Enfin, la toxine *iota*, synthétisée sous forme inactive par *Cl. perfringens* type E, est une protéine binaire de 47 KD, codée par deux gènes situés sur le même plasmide. Elle est activée par la trypsine. La virulence de cette espèce bactérienne dérive de son aptitude à produire ces toxines majeures. Sachant que sa prolifération est tributaire de plusieurs facteurs dont le régime alimentaire.

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

On distingue 3 principaux modes d'action des toxines : 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 (Copyright © 2014).

Tableau III.2 : Principales maladies dues à *C. perfringens* chez les ovins et les caprins : classification toxinogénique (Daube 1992, Manteca et Daube 1994, Uzal 2004)

<i>Clostridium perfringens</i> type	Toxines majeures produites				ovins	caprins
	α	β	ε	ι		
A	++	-	-	-	Dysenterie de l'agneau jaune	Entérotoxémie
B	+	++	+	-	Dysenterie de l'agneau	Entérite hémorragique
C	+	++	-	-	Entérite hémorragique (jeune) Struck (adulte)	Entérite hémorragique
D	+	-	++	-	Maladie du rein pulpeux	
E	+	-	-	++	Entérotoxémie	Entérotoxémie

++ Principale toxine produite

+ Toxine secondaire, en générale produite en quantité moindre

- Toxine non produite

III.1.1.1.2-Action des exotoxines sur les sites ciblent infectés

a- Lyse des tissus

Clostridium secrète une exotoxine protéique, une phospholipase (lecithinase) 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. Mais aucun facteur d'adhésion n'a été mis en évidence (Leonhart 2004).

b- Augmentation de la perméabilité intestinale

Certaines souches de *Clostridium*, dont celles responsables d'entérotaxemie, secrètent une entérotaxine, thermolabile. Libérée dans la lumière intestinale, elle agit en augmentant la

perméabilité intestinale, favorisant ainsi l'entrée des bactéries et des toxines dans l'organisme (Manteca, 2003).

c- 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 liée à la multiplication bactérienne (Manteca, 2003).

III.1.1.1.3- Infections et bactériémies impliquant *Clostridium Perfringens*

La principale caractéristique de ces infections associées aux espèces *Clostridium* toxigènes est la production de gaz au niveau du site infecté (gangrène gazeuse, cholécystite emphysémateuse). *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 ϵ et très peu sur d'autres toxines comme la toxine α . Les scientifiques s'interrogent davantage sur l'enterotoxémie type D.

D'après les modes d'action, les phases de la pathogénie sont identiques chez les ovins et les caprins : altération et perméabilité 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 ϵ 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 α et β_2 dans l'entérotoxémie caprine type A, maladie causant des décès chez le chevreau.

III.1.1.1.2.1-Toxine α (phospholipase C)

Principale responsable des lésions de myonécrose.

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 (Afssa, 2006).

a-cytotoxicité

La toxine α 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 α sur anse colique ligaturée, provoque une sécrétion importante d'ions chlorure. La sortie d'ion Cl^- est due d'une part aux prostaglandines, médiatrices 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 (Uzal 2005).

b-Action sur les intestins

La toxine α n'a 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 (Uzal 2005).

c-Action dans l'organisme

Une fois absorbée dans le flux sanguin, la toxine α 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 (Uzal 2005).

III.1.1.1.2.2-Toxine β 1

Responsable d'entérite nécrosante chez l'homme et l'animal (Afssa, 2006). Elle est produite par *C. perfringens* types B et C. La toxine β 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). 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 β (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.

III.1.1.1.2.3- Toxine β 2

Responsable d'entérite nécrosante chez l'animal, pouvoir pathogène chez l'homme non confirmé (Afssa, 2006).

La toxine β 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 par 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 β 2, mais plus rarement (Dray 2004).

Chez les petits ruminants, un cas d'entérotaxémie type A a été diagnostiqué chez un chevreau, ou certains isolats bactériens portaient le gène de la toxine β 2, laissant présager un rôle de cette toxine dans l'entérotaxémie caprine (Dray 2004). De même, des souches de

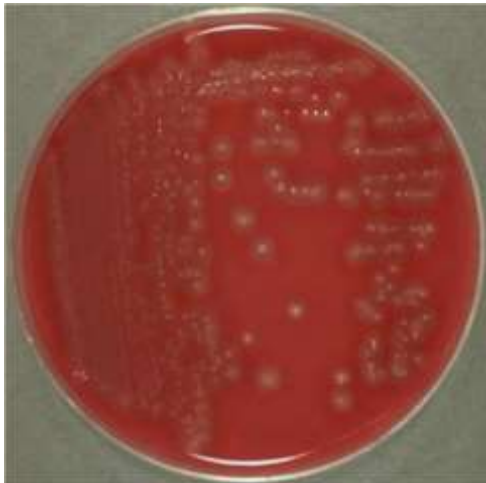


Figure III.1. Espèce de *Clostridium*. Sang isolement Agar en anaérobiose, examiné en lumière transmise, où une zone entourée colonies à double hémolyse sont observées, en raison des α et β toxines produites par *C. perfringens*. Source: © Institut pour perfringens Veterinar Mikrobiologi *Clostridium* .

III.1.1.1.2.4- Toxine ϵ

Toxine responsable des entérotoxémies du bétail (Afssa, 2006).

Elle est produite par *Cl. perfringens* type B et D. Cette toxine est constituée d'une chaîne polypeptidique de 38 KDa. Le gène correspondant est situé sur un plasmide (Manteca *et al.* 2005).

a-Cytotoxicité

La croissance de *Clostridium* conduit à l'accumulation de toxine ϵ dans l'intestin. A la faveur d'une stase alimentaire, la perméabilité intestinale augmente rapidement et de grandes quantités de toxine sont absorbées.

En stimulant l'adénylcyclase membranaire, elle provoque une augmentation de l'AMPc. Les réactions en chaîne qui suivent aboutissent d'une part à la glycogénolyse 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 ϵ . Selon le type de cellule cible, les conséquences sont variables (Uzal *et al.* 2003)

b-Action sur les cellules nerveuses

La toxine ϵ 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 ϵ agirait directement sur les astrocytes en perturbant la dynamique des fluides jusqu'à la mort cellulaire (Uzal *et al.* 1999). L'existence d'un récepteur à la toxine ϵ 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.* 1999).

c-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'œdèmes. Il en résulte : œdème et nécrose du système nerveux responsables de troubles nerveux, œdème perivasculaire 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 ϵ 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 (Popoff 1979, Uzal 2004).

III.1.1.1.2.5- Toxine ι

Seul *C. perfringens* type E produit la toxine ι . Elle est constituée de 2 chaînes polypeptidiques. Le composant actif a un poids moléculaire de 47,5 KDa. Il a un rôle ADPribosyltransferase spécifique du groupement Actine. Son activité consiste à désorganiser le cytosquelette cellulaire en inhibant la régénération de l'actine (Rood , 1998).

III.1.1.1.2.6- Toxine δ

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).

1.1.1.2.7- Entérotoxine

C'est la seule toxine synthétisée en phase de sporulation.

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 à 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 (Rood 1998). L'injection intraveineuse d'extraits bactériens de *C. perfringens* entérotoxigène 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 entérotoxigène dans la maladie chez le mouton (Daube 1992). 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).

III.1.2-Clostridium septicum

C. septicum est l'un de plusieurs bactéries responsables de myonécrose, autrement connu comme la gangrène gazeuse. Sites sujettes à l'infection sont ceux avec vascularisation pauvres, bien raison de pH, électrolyte et différences osmotique, l'intestin peut favoriser la croissance de *C. septicum* mieux que la plupart des autres régions anatomiques. Produit de la gangrène gazeuse par la perturbation de la circulation sanguine vers le site infecté ; résultant en des niveaux diminués de l'oxygène et des nutriments provoquant finalement la mort prématurée des cellules et des tissus nécrosés (Aldape, 2006).

III.1.2.1-Les toxines de *C. Septicum*

C. septicum produit de nombreuses toxines potentiellement pathogènes : neuraminidase, Dnase, sialidase... et Quatre toxines majeures : la toxine alpha létale, DNase bêta- toxine, la toxine hyaluronidase gamma, et le thiol activés / septicolysin toxine delta.

III.1.2.1.1-Toxine α

La toxine Alpha est une toxine porogène exotoxine qui est sécrétée comme une protoxine qui nécessite un clivage protéolytique d'un peptide 5 KDa à partir de son extrémité carboxy - terminale afin de devenir actif. Le clivage est généralement initié par la furine protéase de surface cellulaire. Une fois activée, la toxine peut oligomériser et des pores formés d'environ 1,5 nm de diamètre sont perméables aux ions à travers la membrane cellulaire, ce qui permet la libération d'ions de potassium à partir de globules rouges, perturbant ainsi l'équilibre ionique au sein de la cellule. Une fois l'alpha toxine est fixé sur son récepteur, est activée par les protéases digestives. Les différents peptides ainsi actives migrent, se regroupent et forment un pore membranaire. Son action est létale, hémolytique et nécrotique (Manteca *et al.* 2005).

La toxine alpha, une toxine puissante qui agit principalement dans l'intestin qui provoque la gangrène gazeuse. Autrement connu comme myonécrose. C'est un syndrome potentiellement mortel avec des motifs caractéristiques de la destruction des tissus, œdèmes, la thrombose, et la restriction de l'infiltration leucocytaire au site infecté. Provoque une hémolyse intravasculaire et une nécrose tissulaire .Le cours de la maladie prend moins 24 heures avec un taux de mortalité allant de (morts signalés) 67-100 %. La pathologie de la gangrène gazeuse n'est pas entièrement connue, mais on pense que c'est une perturbation de la

circulation sanguine dans le site infecté. Étant donné que la circulation sanguine est essentielle pour les nutriments et l'apport d'oxygène, une diminution de la perfusion entraînerait la mort cellulaire et la nécrose (Aldape, 2006)

Les symptômes de l'infection comprennent la douleur, décrit comme une lourdeur ou de pression qui est disproportionnée par rapport à l'état physique résultats, la tachycardie et. La nécrose tissulaire provoque alors l'œdème et de l'ischémie entraîne une acidose métabolique, la fièvre et l'insuffisance rénale. Le dioxyde de carbone et de l'hydrogène produit au cours de mouvement de la respiration cellulaire à travers des plans de tissu, ce qui provoque leur séparation, produisant caractéristiques de l'emphysème palpable. Il en résulte également une décoloration de la peau bronze et magenta - bulle remplie d'un fluide sérosanguin nauséabonde.

III.1.2.1.2-La toxine β

La toxine β agit plutôt dans l'abomasum et a une activité désoxyribonucléase (Popoff 1994)

III.1.3-Les toxines de *Clostridium sordellii*

Les souches pathogènes de *C. sordellii* produisent jusqu'à sept exotoxines identifiées Parmi ceux-ci, la toxine létale (LT) et la toxine hémorragique (HT) sont considérés comme les principaux facteurs de virulence. D'autres exotoxines comprennent une hémolysine de l'oxygène labile, la neuraminidase, la DNase, la collagénase, et lysolecithinase . Les rôles de ces toxines dans la pathogenèse n'ont pas été étudiés.

III.1.3.1-- Toxine HT

La toxine HT (toxine hémorragique) est produite en phase de sporulation. Elle est de nature protéique et est inactive 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).

III.1.3.2- 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 α -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 léthal 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 intraveineuse à des souris, la toxine a un effet léthal. Par injection intradermique 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).

III.1.3.3- Rôle dans la pathogénie

Les avis divergent quant au rôle de *C. sordellii* dans la pathogénie des entérotaxies. Il a été isolé seul ou associé à *Fusobacterium necrophorum*, *Clostridium bifermentans* ou *Clostridium sporogenes* dans la caillette d'ovins morts d'entérotaxie. Le rôle pathogène de ces germes anaérobies ayant été écarté, *C. sordellii* devient l'unique responsable de la mort des moutons. Un autre argument est en faveur de sa pathogénicité :

C. sordellii n'a été identifié que chez des animaux atteints d'entérotaxie 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'entérotaxie (Manteca *et al.* 2005). Il est donc peu probable que les toxines soient produites. De plus, ces souches sont biochimiquement proches de *C. bifermentans*, souche non pathogène. Bien que *C. sordellii* soit isolé dans environ 15% des cas d'entérotaxie ovine ou caprine, son rôle dans la pathogénicité est contestable.

Tableau III.3. Age approximatif de la sensibilité (Trevennec, 1994)

Clostridium	0-14 jours	2-13 semaines	3-12mois	1-3 ans	>3 ans
<i>C. perfringens</i> type A	+	+	+	-	-
<i>C. perfringens</i> type B	+	+	+	-	-
<i>C. perfringens</i> type C	+	+	+	-	-
<i>C. perfringens</i> type D	+	+	+	+	-
<i>C. septicum</i>	+	+	+	+	-
<i>C. sordellii</i>	-	-	+	+	-

Chapitre IV :
Epidémiologie

IV. Epidémiologie

IV.1- Epidémiologie descriptive

IV.1.1. 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 1.IV).

Tableau IV.1 : Maladies associées aux divers toxinotypes (classification traditionnelle) de *C. perfringens*, espèces cibles, répartition (Daube, 1992)

Toxinotype	Symptomatologie associée	Espèces cibles	distribution
A1	Gangrène gazeuse	homme	Cosmopolite
	Mammite	bovin	G.B- Japon
	Entérite nécrotique	volaille	Cosmopolite
	Colite	équins	Scandinavie
A2	Intoxication alimentaire	homme	cosmopolite
B1	Dysenterie de l'agneau	ovins, bovins, équins	Afrique du sud, G-B
B2	Entérotoxémie	ovins, caprins	Iran
C1	Struck	ovins	Afrique du sud, G-B, Australie
C2	Entérite nécro-hémorragique	ovins, bovins, équins	U.S.A, G-B
C3	Entérite nécro-hémorragique	porcelet	U.S.A, G-B, Australie
C4	Entérite nécro-hémorragique	Homme, volaille	Allemagne
C5	Entérite nécro-hémorragique	homme	Papouasie nouvelle Guinée
D	Entérotoxémie	Ovins, caprins, bovins	cosmopolite
E	Entérotoxémie	Ovins, 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. Les ovins sont sensibles à davantage de toxinotypes différents, mais les toxinotypes A et D demeurent les plus fréquents (Songer, 1998).

IV.1.2--répartition géographique

La répartition est mondiale (OVF, 2011). L'entérotoxémie du mouton est signalée avec une incidence élevée en Grèce, Syrie, Turquie, et une incidence modérée dans les autres pays.

L'entérotoxémie du mouton a été particulièrement étudiée en Grèce :

chez les agneaux par Stylianopoulos et Debonera dès 1932-1939, chez les adultes par Suiales et Debonera en 1935.

De 1948 à 1968, 43 643 foyers ont été enregistrés par le ministère de l'Agriculture, avec une mortalité de 153 969 moutons et chèvres.

Pour la période 1971-1980, 33 182 foyers ont été signalés avec 76 764 cas de mortalité.

En Yougoslavie, la dysenterie des agneaux a également occasionné, dans la période 1949-1954, des pertes atteignant 7 à 41 % des effectifs, selon les troupeaux. Il semble que l'augmentation du nombre des cas soit liée aux mesures prises dans le cadre de l'amélioration des races locales par le croisement avec des Mérinos. Les autres infections clostridiales semblent poser peu de problèmes dans l'ensemble de la zone. L'élevage des petits ruminants occupe, dans la zone méditerranéenne, une place importante. On dénombre en effet, dans les dix-sept pays méditerranéens, plus de 156 millions d'ovins et près de 44 millions de caprins dont la répartition est indiquée dans le Tableau I. Cet effectif représente 13 % du cheptel ovin mondial et 10% du cheptel caprin mondial. Ovins et caprins apportent la matière première nécessaire à un artisanat du textile et des tapis très actif. Souvent, ils sont les seules sources d'approvisionnement en viande et en lait, le lait des brebis représentant, dans cette région, la production préférentielle (Blajan, 1984).

IV.1.3- l'importance de la maladie

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 (OVF, 2011).

- **Chez les caprins**

Parmi les entérotoxémies dues à *C. perfringens*, environ 65% sont causées par le type A et

35% par le type D. le toxinotype A a été longtemps jugé inoffensif car ubiquiste et commensal de l'intestin (Manteca, 2005)

- **Chez les ovins**

Chez les ovins, l'incidence la plus élevée de l'entérotoxémie concerne les jeunes de 1 à 4 mois (Manteca *et al.* 2005).

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 (Manteca *et al.* 2005).

IV.1.4- 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. 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).

IV.1.5- Catégories d'animaux atteints

Le mode d'élevage intensif semble corrélér 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 1995).

Tableau IV.2 : Fréquence relative des agents étiologiques d'entérotoxémie en fonction de l'âge chez les ovins et les caprins (Popoff ,1989 et 1994).

Type de Clostridium	Nouveau né		Jeune(> 3 sem)		Adulte	
	ovin	caprin	ovin	caprin	ovin	caprin
<i>C.Perfringens</i>	-	-	++	+	++	++
<i>C.Perfringens</i>	+	-	-	-	+	+

<i>C.Perfringens</i>	++	++	+	-	+	-
<i>C.Perfringens</i>	+	+	++	++	++	++
<i>C.Perfringens</i>	+	-	-	-	-	-
<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.

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 agents étiologiques majeurs d'entérotoxémie sont les mêmes chez les ovins et les caprins.

C. sordellii apparaît dans 15% des cas d'entérotoxémie, mais sa virulence est discutée.

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.

IV.2.Epidémiologie analytique

IV.2.1. sources

Le réservoir naturel de *C. perfringens* type A est le sol et l'intestin de l'être humain et des animaux (OVF, 2011)

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.

IV.2.1.1 Les sols

Les sols souillés par les matières fécales peuvent contenir 10^4 UFC/g. Cette valeur sous-estimée probablement la charge réelle en bactérie, car le nombre de spores est souvent

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

IV.2.1.2 Le tractus digestif des animaux

- **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**

Une étude sur un effectif plus grand à l'abattoir, révèle que la toxine ϵ est détectée chez 46% des ovins et des souches de *C. perfringens* type D ont été isolées. *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 (Daube 1992).

IV.2.1.3-Ecologie digestive

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 des 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).

IV.2.2. Contamination

IV.2.2.1 Contamination par *C. perfringens*

- **Chez le nouveau-né**

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 (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 jeune ou de changement alimentaire chez l'agneau de moins de 10 jours (Popoff 1994).

- **Chez le jeune 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 (Manteca *et al.* 2003).

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).

IV.2.2.2 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. 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.

IV.2.3.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.

IV.2.3.1 Atonie intestinale

- **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 (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 toxinogénèse. 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 oligopeptides (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 occasionnée 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 ((Trevenec, 2008 cité par 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 β 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).

- ***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 α 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 granules 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. (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.

IV.2.3.2- sensibilité spécifique

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

- **Sensibilité des cellules céphaliques (Uzal et al. 1999)**

La toxine ϵ 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 ϵ

provoquerait la nécrose de l'endothélium vasculaire cérébral, aboutissant à une augmentation de perméabilité des parois vasculaires et donc à la formation d'œdèmes. Chez les ovins, les signes nerveux dus à l'œdème 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'œdème pulmonaire. Le rôle de la toxine ϵ 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 ϵ 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 ϵ , 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 ϵ permet la survie des cellules MDCK. L'existence d'un récepteur à la toxine ϵ 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 ϵ 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 ϵ sur les cellules endothéliales de la barrière hémato-méningée. L'étude demeure d'autant plus difficile que la toxine ϵ 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.

IV.2.3.4- Age

L'entérotoxémie 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 $\beta 1$. 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'entérotoxémie sont plutôt ponctuels et sont souvent provoqués par un passage brutal d'une ration pauvre en protéines à une ration plus riche (Daube 1992).

La plupart des études menées pour tenter de comprendre la variabilité d'expression clinique de l'entérotoxémie chez les ovins et les caprins portent sur la toxine ϵ , donc sur l'entérotoxémie type D. La prédominance des lésions digestives dans l'entérotoxémie 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 ϵ , 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 ϵ au niveau des cellules endothéliales cérébrales. Mais les modalités de reconnaissance entre la toxine ϵ 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 β_1 . Un pool enzymatique immature dépourvu de trypsine favorise le développement d'entérotoxémie types B et C.

Les différences potentielles d'activité de la toxine α 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.

Chapitre V :
Etude clinique

V. 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 (Songer, 1998).

V.1-Symptômes**V.1.1- Entérotoxémie à *C. perfringens* type A**

Entérotoxémie catégorie 1 (Popoff, 1989).

Synonyme : maladie de l'agneau jaune

L'entérotoxémie type A est la plus fréquente. Elle concerne les ovins et les caprins de tous âges (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. 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 α 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 hépatobiliaire, intoxication. On peut y ajouter également une autre clostridiose, qui sévit davantage chez les bovins : l'hémoglobinurie bacillaire (Dray, 2004).

Le chevreau développe une forme suraigüe 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 α et β_2 (Dray, 2004).

V.1.2-Entérotoxémie à *C.perfringens* type B

Entérotoxémie 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 a

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 diarrhées néonatales de l'agneau : colibacillose, cryptosporidiose, virose digestive (coronavirus et rotavirus), salmonellose. Le diagnostic de l'entérotoxémie de type B dépend des observations *post mortem*. Les autres hypothèses diagnostiques peuvent être exclues par examen coprologique (test ELISA rapide). 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 ϵ (Daube, 1992).

V.1.3 - Entérotoxémie à *C. perfringens* type C

Entérotoxémie 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 *à priori* pas concernée malgré quelques suspicions chez le chevreau. 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 (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 (Popoff, 1989).

La mise en évidence de la méningite, de la septicémie et de l'hypoglycémie est indispensable pour établir le diagnostic différentiels dans les cas où les symptômes digestifs sont frustrés (Van Metre *et al.* 2000 cité par Trevenec, 1994).

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). 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 « bloque ». Le tableau clinique ressemble à celui de l'entérotoxémie de type D : mortalité brutale, abattement profond, convulsions, coma et mort (Popoff, 1994).

V.1.4- 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 (*Tableau V.1*).

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 (Trevenec, 1994).

V.1.4.1- Entérotoxémie de type D des ovins

Les symptômes nerveux dominent le tableau clinique : ataxie précoce, diminution des réflexes, puis léthargies, 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, ce 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 (Uzal 2004). L'injection intra-duodénale de *C. perfringens* type D sur des agneaux de 12 semaines provoque chez 100% des cas : léthargies, 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, Enanthe Safranée, Rhododendron...) (Centre National d'Informations Toxicologiques Vétérinaires cités par Trevenec, 1994) 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, aigue et l'animal succombe en quelques heures.

V.1.4.2- Enterotoxémie 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

V.1.4.2.1-forme suraigüe

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 (Uzal et Kelly 1996).

V.1.4.2.2-forme aigue

C'est la forme d'entérotoxémie la plus fréquente chez l'adulte, même *a priori* bien vacciné. Les symptômes sont identiques à la forme suraigüe 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 ϵ 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).

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, léthargies 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 (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) (Trevenec, 1994).

V.1.4.2.3-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 cité par Trevenec, 1994).

Tableau V.1: 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).

Symptômes décrits dans la bibliographie	Fréquence chez les caprins	Fréquence chez les ovins
Mort subite <ul style="list-style-type: none"> • En quelques heures • En 2-4 jours • chronicité 	++ +++ +	++ - -
Symptômes digestifs <ul style="list-style-type: none"> • distension abdominale • ramollissement des selles • diarrhée profuse fibrino-hémorragique • douleurs, bêlements plaintifs 	++ + +++ ++	- + -/+ +
Symptômes nerveux <ul style="list-style-type: none"> • ataxie • léthargie, coma, décubitus latéral • opisthotonos • pédalage en fin d'évolution 	- + -/+ +	+ ++ ++ ++

++ Fréquent

+ Assez Fréquent

-/+ Variable

- Non décrit

V.1.5-Entérotoxémie à *C. perfringens* type 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 (Songer, 1998).

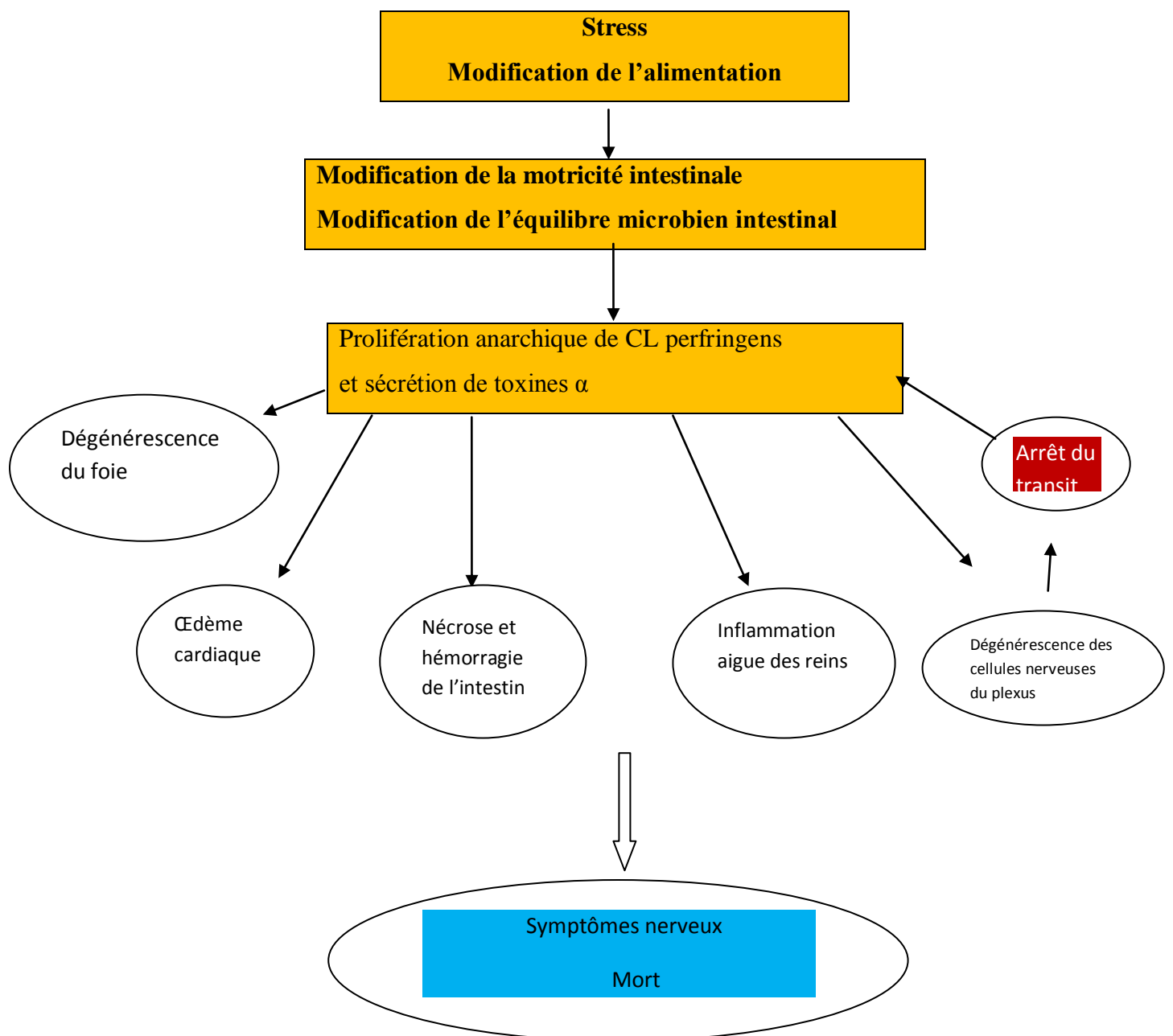


Figure V. 1 : Mécanisme d'action de Clostridium perfringens (Céline,2007)



Figure V.2 : cas d'entérotoxémie. Mort subite chez les ruminants : L'attitude du cadavre peut faire suspecter des troubles nerveux et un gêne abdominal avant la mort.

(Manteca *et al.* 2005).

IV.1.6- 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. 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 listeriose à *Listeria monocytogenes*, et d'autres clostridioses (Popoff, 1994).

V.1.6.1- Caractéristiques cliniques

Les premiers symptômes de *Clostridium sordellii* incluent des symptômes de vomissements, des nausées, de la diarrhée et des douleurs abdominales sans fièvre occasionnelle. Des

fonctionnalités supplémentaires cliniques des infections à *C. sordellii*, énumérés plus ou moins répandue comprennent : choc septique, une légère douleur au site d'infection, réaction leucémoïde, de fièvre, tachycardie, hémococoncentration, un tissu ou un œdème viscérale, protéine sérique réduite, acidose métabolique, diminution du nombre de plaquettes et de globules rouges et les globules blancs dans l'urine. Ces symptômes sont des signes caractéristiques menant à des symptômes plus graves qui se manifestent dans les infections à *C. sordellii* (Literature review current through, 2014.)

V.1.7-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'entérotoxémie 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'entérotoxémie 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 entérotoxémie 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'entérotoxémie 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 dominent 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.

V.3.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.

V.3.1.Etude macroscopique

V.3.1.1.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, pale et friable. La rate est hypertrophiée et œdématiée. Les reins sont légèrement enflammés: hypertrophiés et coloration rouge marron (Trevenec, 1994 cité par Ferrer *et al*, 2002). Un calque de la muqueuse intestinale sur cadavre frais révèle de très nombreuses bactéries Gram positif (Trevenec, 1994).

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 nœuds lymphatiques mésentériques sont hypertrophiés. Les formes ovine et caprine chez l'adulte ne sont pas décrites (Dray 2004).

V.3.1.2. Entérotoxémie de type B

La muqueuse intestinale est particulièrement délabrée : congestion, hémorragie, ulcères nécrotiques. Les lésions systémiques liées à la toxine ϵ 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).

V.3.1.3. 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 mastic, révèle ensuite la présence de sang, de nombreux débris de muqueuse et des placards de fibrine. Un rein pulpeux peut être observé (Popoff 1994).

V.3.1.4 Entérotoxémie de type D

Les animaux présentant peu de signes cliniques sont en général dépourvus de lésions macroscopiques (Uzal 2004).

1) Forme ovine (Blackwell et al, 1991).

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 mise 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 inter-lobaire 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 hyperhémie.

Le jéjunum est le segment le plus lésé (figures V.3 et V.4). On y observe une entérite

hémorragique et le contenu est sanguinolent.



Figure V.3: Entérotoxémie ovine. Jéjunum hémorragique (Manteca *et al.* 2005).



Figure V.4: Entérotoxémie ovine. Entérite hémorragique (Manteca *et al.* 2005).

- **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 V.5).



Figure V.5 : Entérotoxémie ovine. Congestion hépatique (Manteca *et al.* 2005).

- **Rein**

Il subit une dégénérescence *post mortem* particulière (figure V.6). 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 ».

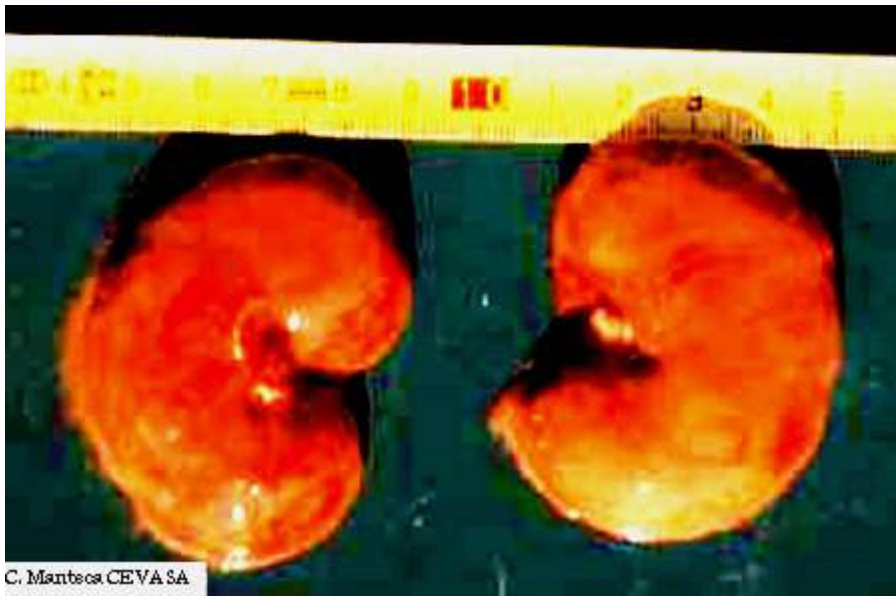


Figure V.6 : Entérotoxémie ovine. Reins pulpeux (Manteca *et al.* 2005).

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.

2) Forme caprine (Uzal, 2004)

L'animal présente également un bon état corporel sauf en cas de forme chronique, ou 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 V.5, V.6 et V.7). 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 œdématiée, 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 fibrin

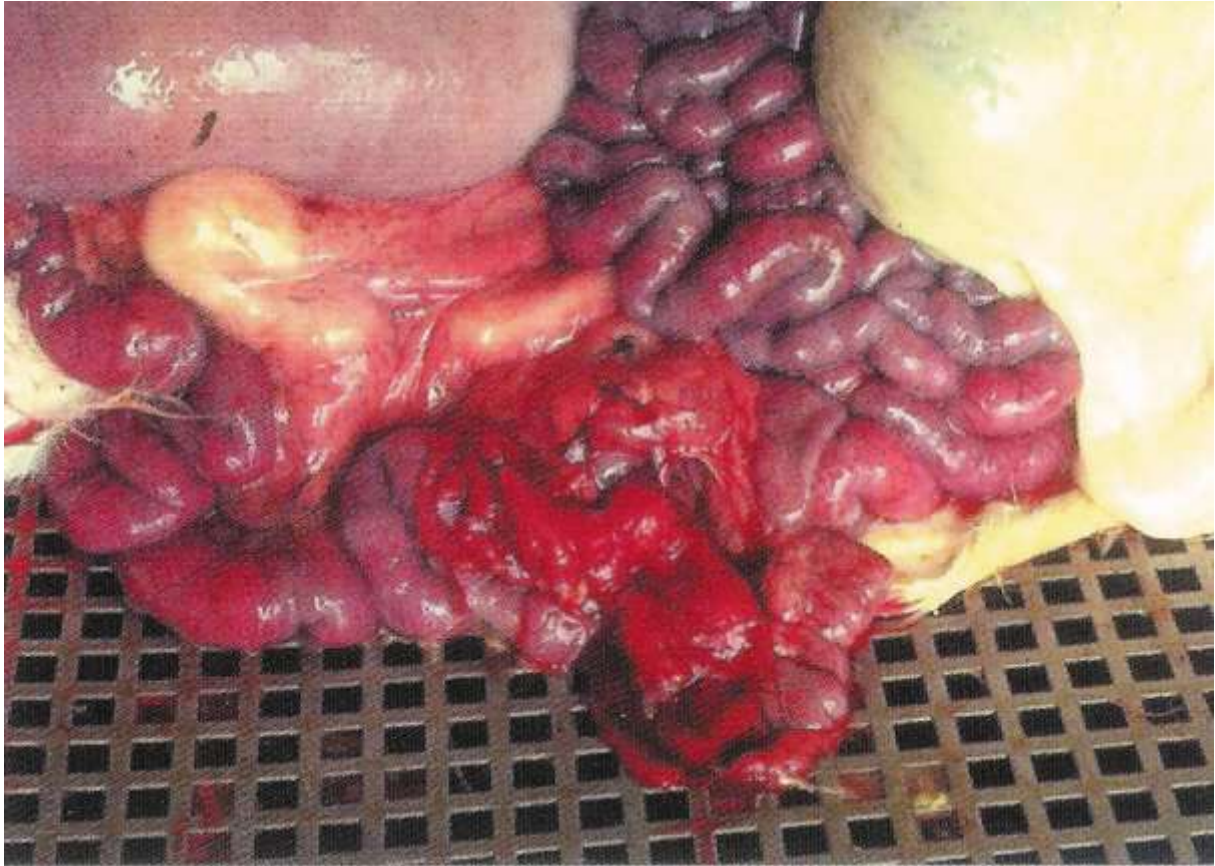


Figure V.7. Entérite hémorragique (Manteca *et al.* 2005)

Chapitre VI:
Diagnostic

VI. Diagnostic

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

VI.1-Prélèvement

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

VI.1.1 Tractus et contenu digestif

Le prélèvement est effectué dans les heures qui suivent la mort, soit 6 heures *post mortem* pour une recherche de toxines, soit 3 heures *post mortem* pour un diagnostic bactériologique. Mais ces délais sont difficilement réalisables en élevage.

En effet, la labilité des toxines dans le contenu intestinal oblige à effectuer les prélèvements sur cadavre frais, et éventuellement à les réfrigérer en attente d'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. 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 ϵ 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.

VI.1.2 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. 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 ce paramètre peu fiable (Popoff 1979, Uzal 2004, Uzal *et al.* 2004).

VI.1.3 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).

VI.1.4 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 ϵ 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 ϵ , mais elle est mal tolérée par la toxine β . L'utilisation de conservateurs est déconseillée car elle complique l'interprétation des tests.

Des fragments d'organe peuvent être également destinés à l'examen histologique, on les conserve alors dans une solution de formol à 10% (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.

VI.2.Méthodes diagnostiques

VI.2.1 Etude 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).

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, Songer1998]. 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 VI.1: Présence et valeur diagnostique de *Clostridium* dans l'intestin des petits ruminants (Latour ,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'entérotaxémie ne suffit pas. Le dénombrement est nécessaire dans la majorité des cas.

1.1- 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 (entérotaxémie 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). 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 la 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'entérotaxémie. Cette valeur est valable après une culture sur milieu TSNR. 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 cycloserine et en chambre anaérobie, la valeur seuil sera 10^8 UFC/ml. De même, hors les 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).

1.2- 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.

1.2.1- Mouse Neutralization 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).

1.2.2-ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) sur contenu intestinal ou sur sérosité

Technique de détection ou de dosage immuno-enzymatique ou 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).

1.2.2.1-Toxine α

Le test ELISA dispose d'une très bonne sensibilité pour la toxine α . Il permet donc de détecter des taux très faibles de toxines. 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 α et ne fournit un résultat positif que sur les animaux malades uniquement (Uzal 2004).

1.2.2.2- Toxine ϵ

Il a été démontré que de faibles taux de toxine ϵ existaient chez les animaux sains. Dans ce cas, les tests conventionnels ne détectent à priori pas la toxine ϵ . 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 ϵ passe rapidement dans l'organisme en disparaissant du contenu Intestinal (Uzal 2004, Uzal *et al.* 2003).

1.2.2.3- Toxine β

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 ϵ est également mise en évidence (Uzal 2004).

1.2.3-Agglutination sur bille de Latex

Cette technique qualitative est très ancienne et aujourd'hui peu utilisée. Les toxines adhèrent sur des anticorps antitoxines présentes sur les billes de latex.

Ce test est réactualisé pour la détection de la toxine ϵ . Sa sensibilité et sa spécificité étant inférieures à celles du test ELISA, les faibles taux de toxine ϵ (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 (Uzal 2004).

1.2.4- PCR (Polymère chain réaction)

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 ϵ), 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 α , ϵ et β (Songer 1998).

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 de recherche, elle permettrait de conclure au diagnostic d'entérotoxémie.

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 (céline, 2007).

VI.1.3-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). 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.

Chapitre VII :
Moyens de lutte

VII. 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.

VII.1. Traitement**VII.1.1. 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).

VII.1.2. Mesures médicales**VII.1.2.1 Traitement symptomatique**

Le traitement symptomatique consiste à lutter contre l'état de choc lié à l'intoxication et aux pertes hydriques. Une réhydratation avec un soluté salin ou glucose 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).

VII.1.2.2 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 (Popoff, 1989).

L'antibiotique de choix reste la famille des pénicillines. Les antibiotiques à base de céphalosporines, tétracyclines, érythromycine - 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 α , 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).

VII.1.2.3 Sérothérapie

La sérothérapie peut être employée pour le traitement des infections diagnostiquées précocement.

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 (Butler 1992). Cependant les antitoxines inhibent uniquement les toxines circulantes et ne peuvent pas agir sur les toxines fixées sur leur récepteur. De plus, les doses de sérum sont importantes et donc très coûteuses. La sérothérapie est donc rarement prescrite à titre curatif.

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 jour à 3 semaines de protection (Popoff, 1989).

VII.1.2.4 Phytothérapie

Au Mexique, certaines plantes traditionnellement utilisées dans le traitement des affections gastro-intestinales, exercent une 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. 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.

VII.2.Prophylaxie

VII.2.1.Maitrise des facteurs de risque

La maitrise 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%)...

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 maitrise 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 maitrise 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 maitrise efficace de la maladie nécessite de vacciner le troupeau.

VII.2.2.vaccination

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.

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 à large spectre (Popoff 1989)

VII.2.2.1- 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). Des résultats similaires sont obtenus chez les chèvres (Uzal, 1998).

- 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, 1998).

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.* 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. Les adjuvants huileux sont utilisés dans l'industrie pharmaceutique pour produire des chèvres hyperimmunisées (Uzal, 1998)

VII.2.2.2-Les vaccins les plus utilisés

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

- Miloxan[®] (laboratoire Merial)

C'est un vaccin inactif, 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 β et ϵ 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 inactif, 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 α , β , et ϵ 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[®].

-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[®] 8 (Laboratoire schering plough)

C'est un vaccin inactif, adjuvé à l'hydroxyde d'aluminium. Les taux minimaux en antitoxine α , β et ϵ 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.

-Séranamix[®] (laboratoire Ceva)

Vaccin inactif, adjuvé à l'hydroxyde d'aluminium. Les taux minimaux d'antitoxine β et ϵ 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.

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 fixes 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. 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.

VII.2.2.3-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).

VII.2.2.4 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 antitoxine 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 antitoxine ϵ non nul avant la première injection de vaccination. Mais il est insuffisant pour fournir une protection contre la maladie (Blackwell *et al.* 1983).

Amplitude de la réponse anticorps

Un pic sérique est obtenu entre le 14^{ème} et 28^{ème} 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. (Green *et al.* 1987).

Persistence du taux d'anticorps

L'évolution dans le temps des titres d'anticorps antitoxine 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 effectuée 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 (Bernath *et al.* 2004).

- **Chez les caprins**

Le titre en anticorps passe en delà du seuil de protection (0,25 UI/ml) entre la 4^{ème} et la 6^{ème} 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^{ème} 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 couteuse et chronophage pour les éleveurs et problématique sur le choix du site d'injection (Uzal, 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).

Conclusion

Conclusion

L'élevage des petits ruminants a une grande importance pour les pays méditerranéens, en raison notamment du nombre de moutons et chèvres dont les effectifs représentent respectivement 13 et 10 % du cheptel mondial.

Les problèmes sanitaires sont souvent relégués au second plan et, par voie de conséquence, leurs répercussions économiques difficiles à apprécier (OIE, 1983).

En effet le pourcentage de la mortalité des jeunes animaux est un des obstacles les plus importants à la croissance démographique des troupeaux et aussi un des principaux facteurs de faiblesse de leur taux d'exploitation.

Devant les ressources disponibles très limitées par rapport à nos besoins. L'homme devra multiplier, nourrir et soigner les espèces animales. C'est dans le souci de contribuer à l'amélioration de l'élevage des petits ruminants (ovins et caprins), plus particulièrement

Les nouveaux nés qui sont très fragiles à cause de l'immaturation de leur système immunitaire et donc exposés à différents types d'infections. Celui qui aura souffert et survécu d'une pathologie sévère verra sa croissance perturbée et devient alors une non-valeur économique. Parmi ces infections si distraite et si dangereuse qui cause un taux très élevés de mortalité est l'entérotoxémie qui est une pathologie suraiguë ou aiguë caractérisée par la résorption dans la circulation sanguine de toxines élaborées dans l'intestin.

Toxines produites par des bactéries telles que "*Clostridium perfringens*", "*Clostridium sordellii*" et *Clostridium septicum* qui prolifèrent dans l'intestin, dans des circonstances souvent mal connues.

L'écosystème microbien est normalement bien régulé. Mais, dans certaines circonstances, il est perturbé à cause de la multiplication rapide et anarchique de ces bactéries, dont la virulence est associée à la production de différentes exotoxines qui entraînent la mort subite de l'animal (Poncelet, 2002).

Parmi les facteurs de perturbation de la flore gastro-intestinale, on cite :

Facteurs alimentaires :

- Variation brutale de régime alimentaire Ex : nouveau foin - nouveau concentré
- Excès alimentaire. Ex : excès d'amidon avec acidose et parakératose du rumen
- Aliment inadapté. Ex : certains aliments du commerce sont pour certaines fabrications très entérotoxinogènes, sans qu'on puisse expliquer pourquoi.
- Pica des agneaux causé par la carence en phosphore)

Conclusion

- Facteurs parasitaires à savoir la coccidiose, ténia et la petite douve qui perturbent la flore intestinale et provoquent l'entérotoxémie (Poncelet, 2002)

Par conséquent la conduite à tenir lors d'un épisode d'entérotoxémie dans un élevage est

1- mener une enquête approfondie pour déterminer et corriger la cause du développement des clostridies.

2- Enquête parasitaire pour prescrire un traitement spécifique d'urgence.

3- Enquête alimentaire en supprimant les aliments douteux ou nouvellement introduits.

Le but est de revenir au régime antérieur, pour respecter la flore établie.

4- En cas de pica sur les agneaux, il faut injecter du phosphore + peros aux mères

5- en cas d'acidose on doit administrer le bicarbonate de soude 1 g / 4 kg de poids 2 fois / j.

6- Les "Probiotiques" peuvent être efficaces pour freiner la prolifération des *clostridies* et aider au rétablissement d'une flore équilibrée.

7- l'administration des vaccins qui sont efficaces et bien tolérés. En vaccinant, on induit une montée significative du niveau de la protection immunitaire (Poncelet, 2002).

Références
Bibliographique

Références Bibliographiques

Agence nationale de sécurité sanitaire (ANSES) : Fiche de description de danger microbien transmissible par les aliments / *Clostridium perfringens*. décembre 2010.

Aldape, M. J. Bryant A. E. ET Stevens D. L. *Clostridium sordellii* Infection: Epidemiology, Clinical Findings, and Current Perspectives on Diagnosis and Treatment
Veterans Affairs Medical Center, Boise University of Idaho, Moscow, Idaho

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, 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

Blajan. L. Maladies des ovins et caprins ayant une importance économique dans la zone méditerranéenne . *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 1984, 3 (1), 191-208

Céline Robert, 2007 : Bactériémies à *Clostridium* spp. : Signification clinique. Analyse rétrospective de 41 cas dont trois cas de bactériémies à *Clostridium orbiscindens*.

Chartier C. (2002) Enterotoxémie et vaccination chez les caprins. *Point Vet.* (n°special pathologie ovine et caprine). 140-4

Chartier C, Broqua C. (1995) Maladies nutritionnelles et métaboliques de la chèvre adulte. *Point Vet.* 27(numero special):107-118

Clark S. (2003) Sudden death in periparturient sheep associated with *Clostridium sordellii*. *Vet Rec* 153: 340

Clinical infectious diseases *Clostridium sordellii* Infection: Epidemiology, Clinical Findings, and Current Perspectives on Diagnosis and Treatment. Copyright c 2015 infectious diseases. Society of America.

Clinical Infectious Diseases cid.oxfordjournals.org. *Clin Infect Dis.* (2006) 43 (11): 1436-1446. doi: 10.1086/508866 .

Conférence présentée au Symposium international sur la production des ovins et des caprins la zone méditerranéenne, Ankara (Turquie), 17-21 octobre 1983. ** Directeur Général de l'O.I.E., Paris.

Dart F, *La coprologie sur le web*. Mises a jour janvier 2005 [<http://coproweb.free.fr>] (consulte le 15 mai 2005).

Daube G. (1992) *Clostridium perfringens* et pathologies digestives. Ann Med Vet. 136:5-30
DCEM1 « Bactériologie »2002 – 2003. Service de Bactériologie. Mise à jour : 24 mars 2003.

Dray T. (2004) *Clostridium perfringens* type A and β 2 toxin associated with enterotoxaemia in a 5-week-old goat. Can Vet J 45: 251-253

Dra. Trinidad Sabalet. Copyright 2002-2015 Partners Healthcare System, Inc. Privacy & Disclaimer. Atlas de Bacteriologia

Foliaveterinaria: Divers problèmes rencontrés chez les animaux domestiques. CBIP vétérinaire.

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 enterotoxémies chez les bovins: bilan bibliographique et contribution à l'amélioration du diagnostic nécropsique et bactériologique. These Med Vet. Ecole Nationale Veterinaire de Lyon, Lyon.

Leonhart L. (2004) Les enterotoxémies: actualités bibliographiques. These Med Vet. Ecole Nationale Veterinaire de Lyon, Lyon.

Literature review current through: Dec 2014. | This topic last updated: Oct 17, 2014. Toxic shock syndrome due to *Clostridium sordellii*

Maaroufi, W. Metoui, S. Rahmouni et A. Ghram. Caractérisation d'une souche de *C.perfringens* type D, isolée de terrain et optimisation de la biosynthèse et bio-fermenteur de la toxine epsilon. 2000.

Manteca C, Daube G. (1994) Etude de l'enterotoxémie bovine en Belgique. Ann Med Vet, 138:155-164

Manteca C, Daube G, Jauniaux T, *et al.* (2002) A role of the *Clostridium perfringens* β 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, Grece. 17-21 juin 2005.

Manteca C. (2003) Etude étiologique de l'enterotoxémie bovine. These Med Vet. Université de Liège, Liège. 115p.

MicrobeWiki, the student-edited microbiology resource, 2010.

National Library of Medicine - Medical Subject Headings, 2013 MeSH

OVF (Office vétérinaire fédéral) : *Clostridium perfringens*: Gastro-entérite clostridienne
Département fédéral de l'économie DFE.2011.

Petit S. (2005) *Dictionnaire des Médicaments Vétérinaires (DMV)*, 13ème édition. Point vétérinaire. 1765p.

Philippeau C, Goncalves S, Julliard V. (2003) Diagnostic bactériologique des enterotoxémies. Point Vet. 237 : 12-13

Poncelet J-L : les entérotoxémies. SNGTV (société nationale des groupements techniques vétérinaires). Fiche N°45. Novembre 2002.

Popoff M. (1979) Enterotoxémie 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 enterotoxémies. Revue Med. Vet. 140(6):479-491

Popoff M. (1994) Les affections à *Clostridium* chez les ovins. Bulletin des GTV. 3 : 43-49
109

Rood JI. (1998) Virulence genes of *Clostridium perfringens*. Annu Rev Microbiol. 52: 333-60

Roy. C, Mort subite chez les ruminants : cas de l'entérotoxémie. GCDS

Shoenian S, Vaccines (biologics) used in the sheep and goat industry. *Site de Maryland small ruminant page*. Mise à jour le 11 novembre 2005

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

Trevenec. K, Entérotoxémie : comparaison des formes ovines et caprines. 1994

University of Washington School of Medicine, Seattle *Reprints or correspondence: Dr. Michael Aldape, Veterans Affairs Medical Center, Infectious Diseases Section, 500 West Fort St., Bldg. 45, Boise, ID 83702 (maldape32@hotmail.com)*.

Uzal FA. (2004) Diagnosis of *Clostridium perfringens* intestinal infections in sheep and goats. Anaerobe 10. 135-143

Uzal FA, Bodero 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, Kelly WR. (1996) Enterotoxaemia in goats. Vet Res Commun. 20(6):481-492.

Uzal FA, Kelly1 WR. (1998) Experimental *Clostridium perfringens* type D enterotoxaemia in goats. Vet Pathol. 35:132-140.

Vermesse .R. Entérotoxémies bovines. Pathologie veaux. 13/05/96.Page1/3