

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



UNIVERSITE IBN KHALDOUN DE TIARET
FACULTE DES SCIENCES AGRO-VETERINAIRES
DEPARTEMENT DES SCIENCES VETERINAIRES



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

Sous le thème

*ENTEROTOXIMIE CHEZ LES OVINS ET
LES CAPRINS*

Présenté PAR :

MR. BAKRETI MOUSAAB

MR. KOUADRIA ABDELATIF

Encadre:

DR MORSLI AMIROUCHE

Année universitaire 2015/2016

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 ABi et ma OMi.

A mes frères

Adnan, Othman, Zakaria, Kawther, AbdelFateh et mes amis plutôt, Saïd, Abderahim, Soufiane, Houssam.

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

A mon chère ami Saïd, Soufian DJ.

A mes amis Ali, Abderrahim, Abdelkader, Mboulhi, Aïcha, Ihssan, Nour, Ffana, Mdjid, Touts la promo de 5eme année.

A mes frères et sœurs d'UGEL qui m'aide durent tous ses années.

A tous ceux qui m'aiment.

Moussaab

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 ma femme et mon petit ange Houcine.

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

A mes amis Miloud, Youcef, Noureddine, Rabeh et Muhammed.

A tous ceux qui m'aiment.

Que dieux les garde.

Abdelatif

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 la.

Je remercie ensuite mon encadreur Dr. Morsli Amirouche pour son aide et ses nombreux conseils.

Au Docteur Bía taña, 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 :

LISTE DES FIGURES	5
LISTE DES TABLEAUX	6
INTRODUCTION	8
I. ETIOPATHOGENIE DE L'ENTEROTOXEMIE CHEZ LES OVINS ET LES CAPRINS	9
1.1. Les bactéries	9
1.1.1. Les agents responsables d'entérotoxémie chez les petits ruminants	9
1.1.2. Habitat	9
1.1.3. Morphologie	10
1.1.4. Culture	10
1.1.5. Mode d'action	12
1.1.6. Sensibilité et résistance aux antibiotiques et détergents	13
1.1.7. Classification de Clostridium perfringens	16
1.2. Les toxines	21
1.2.1. Les toxines de Clostridium perfringens	21
1.2.2. Les toxines de Clostridium sordellii	29
1.2.3. Les toxines de Clostridium septicum	30
II.EPIDEMIOLOGIE	31
11.1. Epidémiologie descriptive	31
11.1.1. Espèces sensibles et répartition géographique	31
11.1.2. Catégories d'animaux atteints	32
11.2. Epidémiologie analytique	34
11.2.1. Sources	34

11.2.2. Contamination	35
11.2.3. Facteurs de risque	36
11.2.4. Sensibilité spécifique	39
1. ETUDE CLINIQUE	43
11.3. Symptômes	43
11.3.1. Entérotoxémie à C. perfringens type A	43
11.3.2. Entérotoxémie a C. perfringens type B	44
11.3.3. Entérotoxémie à C. perfringens type C	45
11.3.4. Entérotoxémie à C. perfringens type D	46
11.3.5. Entérotoxémie à C. perfringens E	48
11.3.6. Entérotoxémie à C. sordellii	48
11.3.7. Entérotoxémie à C. spticum	49
11.4. Lésions	50
11.4.1. Etude macroscopique	50
11.4.2. Etude histologique	58
11.5. Diagnostic	61
II.5.1. Prélèvements	61
II.5.2. Méthodes diagnostiques	63
2. MOYENS DE LUTTE	74
11.6. Traitement	74
11.6.1. Mesures hygiéniques	74
11.6.2. Mesures médicales	74
11.7. Prophylaxie	76
11.7.1. Maîtrise des facteurs de risque	76

11.7.2. Vaccination 77

CONCLUSION84

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1 : C. PERFRINGENS, FORME VEGETATIVE	10
FIGURE 2: CARTE GENETIQUE DU CHROMOSOME DE C	17
FIGURE 3 : ENTEROTOXEMIE OVINE. JEJUNUM HEMORRAGIQUE	53
FIGURE 4 : ENTEROTOXEMIE OVINE. CONGESTION HEPATIQUE	53
FIGURE 5 : ENTEROTOXEMIE OVINE. REINS PULPEUX	54
FIGURE 6 : ENTEROTOXEMIE CAPRINE. ENTERITE ET COLITE HEMORRAGIQUE.....	55
FIGURE 7 : ENTEROTOXEMIE CAPRINE. INFLAMMATION DU CAECUM	55

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU I : CARACTERES CULTURAUX DE C. PERFRINGENS, C. SORDELLII ET C. SEPTICUM.....	12
TABLEAU II : PRINCIPALES MALADIES DUES A C. PERFRINGENS CHEZ LES OVINS ET LES CAPRINS : CLASSIFICATION TOXINGENIQUE.....	15
TABLEAU III : TOXINOTYPES ET GENOTYPES ASSOCIES DE CLOSTRIDIUM PERFRINGENS.....	16
TABLEAU IV : DEFINITION DES NOUVELLES CATEGORIES DE C. PERFRINGENS	20
TABLEAU V : GENE, MODE D'ACTION ET ACTIVITE BIOLOGIQUE DES TOXINES DE C. PERFRINGENS.....	22
TABLEAU VI : MALADIES ASSOCIEES AUX DIVERS TOXINOTYPES (CLASSIFICATION TRADITIONNELLE) DE C. PERFRINGENS, ESPECES CIBLES, REPARTITION	31
TABLEAU VII : FREQUENCE RELATIVE DES AGENTS ETIOLOGIQUES D'ENTEROTOXEMIE EN FONCTION DE L'AGE CHEZ LES OVINS ET LES CAPRINS	33
TABLEAU VIII : ETUDE CLINIQUE DE L'ENTEROTOXEMIE TYPEE CHEZ LES OVINS ET LES CAPRINS.	

TABLEAU IX: GRILLE DES LESIONS NECROPSIQUES D'ENTEROTOXEMIE TYPED.....	57
TABLEAUX: PRESENCE ET VALEUR DIAGNOSTIQUE DECLOSTRIDIUM DANS L'INTESTIN DES PETITS RUMINANTS.....	66
TABLEAUXI : QUELQUES VACCINS VETERINAIRES CONTRE L'ENTEROTOXEMIE DISPONIBLES DANS LE MONDE	78

INTRODUCTION

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

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

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

Malgré les apparences et certaines pratiques, les ovins et les caprins sont deux espèces très différentes, dont l'élevage et la maîtrise sanitaire ne peuvent être adaptés de l'une à l'autre.

Alors que l'étiopathogénie et les facteurs de risque d'entérotoxémie sont identiques, l'étude épidémiologique, clinique et nécropsique révèle de fortes variations d'une espèce à l'autre. La différence de réceptivité et de sensibilité est directement incriminée et joue un rôle important dans la prophylaxie *via* la vaccination.

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

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

I.1.LES BACTERIES

I.1.1.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 tel que *Escherichia coli*, mais leur prévalence est tellement faible qu'il me semble inutile de les détailler. *Clostridium* est un bacille GRAM positif, anaérobie, tellurique et capable de sporuler.

Chez les petits ruminants, on connaît 3 principaux agents d'entérotoxémie :

Clostridium perfringens

Responsable d'entérotoxémies, de toxi-infection alimentaires et de gangrènes gazeuses posttraumatiques.

Synonyme : *C. welchii*, *enteritis necroticans*.

Clostridium sordellii

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

Synonyme : *Bacillus oedematissporogenes*, *Bacillus sordellii*.

Clostridium septicum

Responsable d'oedème malin chez de nombreuses espèces et d'un syndrome entérotoxémique associant des lésions de la caillette chez les petits ruminants.

Les principaux agents étiologiques d'entérotoxémie sont les mêmes pour les ovins et les caprins : *C. perfringens*, *C. sordellii* et *C. septicum*.

I.1.2. HABITAT

C. perfringens présente un habitat mixte : l'habitat anaérobie est le plus répandu dans l'environnement. La plupart du temps, *C. perfringens* type A est retrouvé dans les sols, l'air, l'eau ou les poussières mais c'est aussi un commensal des flores intestinales, vaginales ou dees

aériennes supérieures de l'Homme et des animaux. Il est occasionnellement rencontré dans l'erumen, en faible nombre. Il est détruit dans l'abomasum. Dans les conditions normales, il peut être présent dans l'intestin grêle, le caecum et le colon.

Capable de tolérer une semi-anaérobiose, il contamine sous forme sporulée certains aliments (viande, lait, fruits, légumes) et sa présence dans les eaux est un critère de contamination fécale.

Les autres types de *C. perfringens* ont essentiellement un habitat intestinal (ruminants). *C. sordellii* et *C. septicum* résident également dans le sol et l'intestin de l'Homme et des animaux. Cependant, certains auteurs soulignent la difficulté d'isoler *C. sordellii* dans la plupart des cas de clostridiose ou de mort subite. Cette rareté suggère qu'il n'est pas commensal du tube digestif.

I.1.3.MORPHOLOGIE

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

I.1.3.1 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, non mobile car dépourvu de flagelle contrairement aux autres clostridies (figure 1).

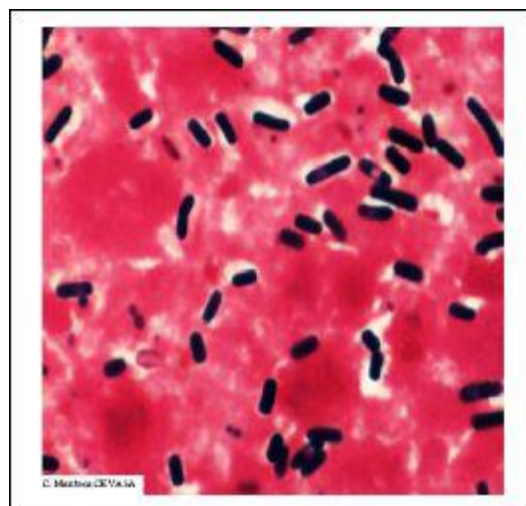


Figure 1 : *C. perfringens*, forme végétative [C. Manteca CEVA SA].

C. sordellii et *C. septicum* sont des bacilles plus fins et plus courts. Ils sont mobiles. Les bactéries peuvent être isolées, liées 2 par 2 ou en amas. *In vivo*, *C. septicum* forme de longues chaînes.

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

I.1.3.2 Spore

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. 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.

I.1.4. CULTURE

I.1.4.1 Culture sur milieu de type gélose au sang

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

Les colonies de *C. perfringens* sont plates, brillantes et irrégulières. Placées 1 heure à 4°C, elles créent une double hémolyse: une hémolyse complète au contact de la colonie et un halo trouble de l'hémolyse incomplète. La double hémolyse est typique de *C. perfringens*.

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

I.1.4.2 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.

I.1.4.3 Caractères cultureux de base (Tableau I)

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

Tableau I : Caractères cultureux de *C. perfringens*, *C. sordellii* et *C. septicum*

(Latour, 2004, Trevennec, 2007).

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

I.1.5. MODE D'ACTION

I.1.5.1 Lyse des tissus

Clostridium secrète une exotoxine protéique, une phospholipase (lécithinase) qui désorganise les membranes cellulaires. Cette toxine antigénique a aussi une action hémolytique. *C. perfringens* secrète aussi une hyaluronidase, une collagénase et une désoxyribonucléase dont l'action cellulaire favorise l'extension de l'infection. Ce pool enzymatique participe à la destruction des tissus, notamment de la muqueuse intestinale. Mais aucun facteur d'adhésion n'a été mis en évidence.

I.1.5.2 Augmentation de la perméabilité intestinale

Certaines souches de *Clostridium*, dont celles responsables d'entérotoxémie, sécrètent une entérotoxine, 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.

I.1.5.3 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. Les toxines étant les principaux facteurs de virulence, leur concentration est étroitement corrélée à l'intensité du syndrome entérotoxémique et à la sévérité des lésions.

La quantité de toxine libérée est proportionnelle à la multiplication bactérienne.

I.1.6.1 Sensibilité et résistance 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.

LES BÉTA LACTAMINES

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.

RÉSISTANCE AUX MACROLIDES, LINCOSAMIDES

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

RÉSISTANCE AUX TÉTRACYCLINES

Plusieurs gènes de résistance aux tétracyclines ont été mis en évidence chez *C. perfringens*.

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

RÉSISTANCE AU CHLORAMPHÉNICOL

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

SENSIBILITÉ AUX AUTRES ANTIBIOTIQUES

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

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

I.1.6.2 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.

I.1.7. CLASSIFICATION DE *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS*

I.1.7.1 Classification en toxinotypes

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

Une première classification des souches de *C. perfringens* est fondée sur leur capacité à produire les 4 toxines majeures : alpha, bêta 1, epsilon et iota. On utilise donc une classification phénotypique. Cinq types de *C. perfringens* sont ainsi définis dans la

classification de Wildson, datant de 1933 et encore souvent utilisée aujourd'hui (cf. Tableau II).

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

Tableau II : Principales maladies dues à *C. perfringens* chez les ovins et les caprins : classification toxingénique. (Trevennec, 2007)

++ Principale toxine produite + Toxine secondaire, en général produite en quantité moindre - Toxine non produite Sous type

Les 5 profils sont eux même subdivisés selon les types de production de toxines dites mineures. Les toxinotypes A, B et C se divisent respectivement en 2, 2 et 5 sous-types. Mais la classification en sous-types a une utilité restreinte. Alors que certains sous-types, ont une spécificité géographique ou d'hôte, leur intérêt diagnostique est nul, puisque les anticorps neutralisants utilisés pour le diagnostic sont dirigés contre les toxines majeures. Les valences mineures ne sont pas vérifiées.

Deux autres toxines majeures existent, l'entérotoxine et la toxine β₂, chez *C. perfringens* et ne sont donc pas utilisées pour le typage.

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

I.1.7.2 Classification génotypique

Des souches de même toxinotype pourraient avoir des génomes différents, avec la mobilité probable de gènes de la virulence, notamment des gènes plasmidiques. La classification phénotypique, jugée trop restreinte, est progressivement abandonnée au profit d'une classification génotypique.

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

TOXINOTYPE	GENOTYPES ASSOCIES
A	<i>pic</i> <i>pic, cpe pic,</i> <i>cpb2 pic,</i> <i>cpb2, cpe</i>
B	<i>pic, cpbl, etx pic,</i> <i>cpbl, etx, cpe</i>
C	<i>pic, cpbl</i> <i>pic, cpb2</i> <i>pic, cpbl, cpe</i> <i>pic, cpb2, cpe</i> <i>pic, cpbl, cpb2, cpe</i>
D	<i>pic, etx pic,</i> <i>etx, cpe</i>
E	<i>pic, iap, ibp pic,</i> <i>iap, ibp, cpe pic,</i> <i>iap</i>

2004].

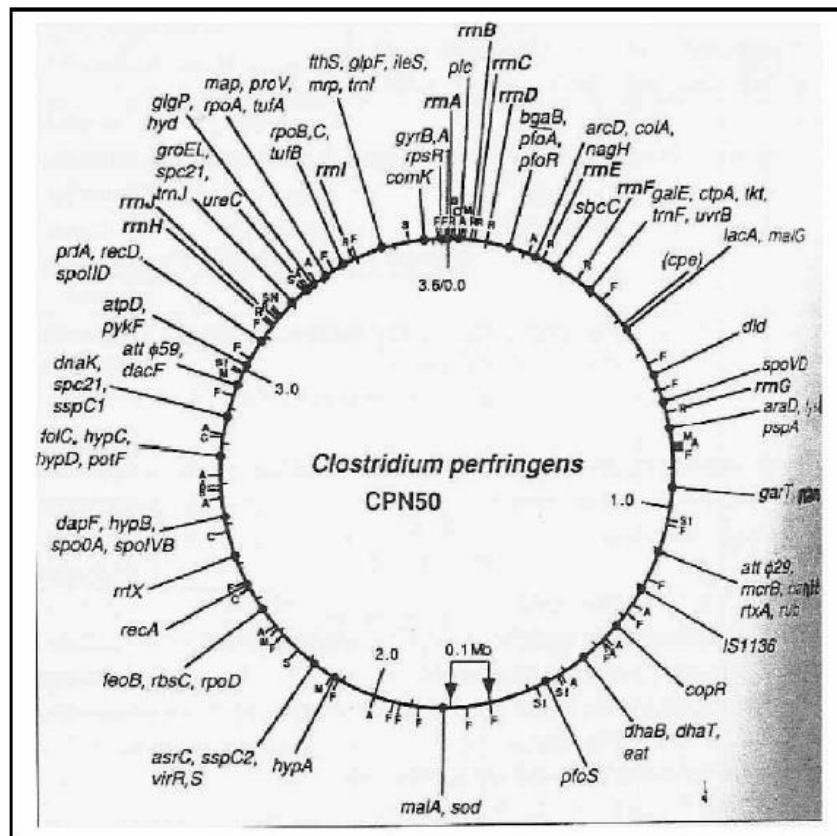
1) ETUDE GÉNÉTIQUE

Chromosome bactérien

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

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

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



**Figure 2: Carte génétique du chromosome de *C. perfringens*
CPN50 [Rood 1998].**

Gène *plc*: toxine α

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

evient active qu'une fois libérée dans le milieu. Le rôle de la toxine κ dans la virulence reste à prouver.

De même, les gènes *nagHet lam* codent respectivement pour les enzymes β -N-Acetylglucosaminidase soit la toxine μ et une caséinase, soit la toxine λ . Leur rôle dans la virulence demeure inconnu.

Gènes *nanHe tnanI*: sialidase

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

Plasmides

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

Gène *c pbl* : toxine β 1

Ce locus est situé sur un grand plasmide. De nombreuses ressemblances ont été identifiées avec le gène de la toxine α de *Staphylococcus aureus*. La toxine β 1 est constituée de 309 acides aminés. Elle est très instable dans le contenu digestif car sensible à la trypsine intestinale.

Gène *c pb2* : toxine β 2

Ce locus fut découvert récemment. Il est situé sur un grand plasmide. Longtemps confondue avec la toxine β 1, il s'est en fait avéré que ces 2 toxines avaient des séquences très différentes.

Gène *e tx*: toxine ϵ

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

Gènes *iap/iab*: toxine ι

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

Régulation de la production de toxines

Si on met en culture croisée 2 souches mutantes, toutes 2 incapables de produire la toxine θ , on observe tout de même une hémolyse. Il a été prouvé que le premier mutant produisait une exo protéine, qui activait la synthèse de la toxine θ chez le second mutant. En effet, le premier avait subi une mutation sur la séquence même du gène de la toxine, et le second avait subi une mutation sur le gène de la protéine activatrice. Tous 2 étaient inaptes à produire la toxine mais la culture croisée a permis une complémentation fonctionnelle. Cette expérience montre qu'il existe des substances activatrices et que la synthèse des toxines est régulée. La régulation de l'expression des gènes toxiques dépend de substances activatrices et du système *virS/virR*. Ces gènes sont chromosomiques. La protéine *virS* est enchassée dans la membrane cytoplasmique. Suite à son activation par une substance extra-cellulaire, elle subit une

autophosphorylation. Une réaction en cascade démarre, *via* la protéine virR, qui induit la transcription de gènes toxiques. Les loci sensibles à cette régulation sont *pfoA*, *nanH*, *nanI*, *colA*(et *colR*?), *plrR*(?) qui à son tour stimule l'expression de *plc*. D'autres modalités de régulation existent, mais demeurent inconnues.

>Entérotoxine

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

NOUVELLE CLASSIFICATION

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

Catégorie	Facteur de virulence principal	Toxinotypes impliqués
1	Toxine α	Type A non entérotoxigène
2	Toxine β	Type B non entérotoxigène Type C non entérotoxigène Type C entérotoxigène
3	Toxine ϵ	Type D non entérotoxigène Type D entérotoxigène
4	Toxine ι	Type E (le gène <i>cpe</i> n'est pas exprimé)
5	Entérotoxine	Type A entérotoxigène

Tableau IV: Définition des nouvelles catégories de *C. perfringens*

[Daube 1992]

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

I.2.LES TOXINES

I.2.1.LES TOXINES DE *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS*

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

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

Toxine	Gène	Localisation	Activité biologique	Effet pathologique
a	<i>pic</i>	chromosome	Phospholipase C-lécithinase, hémolysine, nécrotique, létale (détruite par la trypsine)	Augmentation de la perméabilité des endothéliums, cytolytique, hémolytique, leucocytaire
Pi	<i>cpbl</i>	plasmide	Nécrotique, létale (détruite par la trypsine)	Nécrose hémorragique de la muqueuse intestinale
P2	<i>cpb2</i>	plasmide	Formation de pores ? Altération des membranes cellulaires ? (détruite par la trypsine)	Nécrose hémorragique de la muqueuse intestinale
8	<i>etx</i>	plasmide	Augmentation de la perméabilité capillaire, nécrotique, létale (activée par la trypsine)	Oedèmes, oedèmes périvasculaires, nécrose cérébrale et rénale
I	<i>iap/ibp</i>	plasmide	Actine spécifique-ADP-ribosyltransferase	Nécrose de la muqueuse intestinale
Entérotoxine	<i>cpe</i>	Chromosome/ plasmide	Formation de pores membranaires, vérotoxique, entérotoxique (résistante à la trypsine)	Fuite d'ions, déshydratation cellulaire, diarrhée
0	<i>pfoA</i>	chromosome	Hémolysine	Virulence secondaire
K	<i>colA</i>	chromosome	Collagénase, gélatinase	Virulence secondaire
X	<i>lam</i>	chromosome	Protéase : caséinase, gélatinase	Virulence secondaire
fi	<i>nagH</i>	chromosome	Endo-P-N-acétyl-glucosaminidase	Virulence secondaire
Sialidase	<i>nanI, nanH</i>	chromosome	Sialidase, neuraminidase	Virulence secondaire

I.2.1.1 Toxine α

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

1) CYTOTOXICITÉ

La toxine 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 de l'inflammation, d'autre part aux modifications de la concentration cellulaire en ions calcium.

La sortie d'eau qui s'en suit contribue à l'effet cytotoxique de la toxine. Chez les petits ruminants, aucune mesure des transports d'ions n'a été réalisée pour expliquer le mécanisme précis de cette sortie d'eau. Mais le modèle du rat semble pouvoir être rapporté à ces espèces.

ACTION DANS L'INTESTIN

Le rôle de la toxine α dans la pathogénie entérique n'est pas clairement défini. L'inoculation de toxine α sur anses intestinales ligaturées d'agneaux induit une forte exsudation de liquide.

Expérimentalement, il a été observé que l'augmentation de la perméabilité membranaire était biphasique. Ceci suggère la double action de la toxine α : morphologique et physiologique. Le mécanisme reste flou, d'autant plus qu'aucune modification morphologique des entérocytes n'a été observée à ce jour. La toxine α n'a donc pas de rôle majeur dans l'intestin, elle induit simplement une inflammation aiguë de la paroi intestinale, avec une exsudation dans la lumière iléale et colique, dans les 4 h qui suivent l'inoculation.

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.

I.2.1.2 Toxine β_1

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.

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_1 .

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.

I.2.1.3 Toxine β_2

Longtemps confondue avec la toxine β_1 , la toxine β_2 a d'abord été isolée sur des porcs présentant une entérite nécro-hémorragique, et plus tard chez d'autres espèces dont l'agneau et le chevreau. Malgré des similitudes biologiques, leur séquence en acides aminés ne présente aucune homologie significative et elles sont différentes d'un point de vue sérologique, sans réaction croisée possible.

La toxine 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 sur les organes internes.

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.

Une synergie entre les toxines α et β_2 est suspectée. On considère que 60% des cas d'entérotoxémie du veau sont dus à l'action couplée de ces 2 toxines. Chez les petits ruminants, un cas d'entérotoxémie type A a été diagnostiqué chez un chevreau, où certains isolats bactériens portaient le gène de la toxine β_2 , laissant présager un rôle de cette toxine dans l'entérotoxémie caprine. De même, des souches de *C. perfringens*

type A contenant le gène $\beta 2$ ont été isolées chez des ovins, mais aucune étude ne permet de préciser si cette toxine était effectivement produite.

I.2.1.4 Toxine ?.

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

1) STRUCTURE

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

La chaîne polypeptidique est tout d'abord synthétisée sous forme d'une prototoxine atoxique et thermostable. Elle est ensuite activée dans l'intestin, grâce à la trypsine pancréatique et la toxine mineure λ , qui catalysent le clivage au niveau du 16ème acide aminé.

CYTOTOXICITE

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. Des sensibilités spécifiques permettent une plus ou moins bonne résistance aux effets locaux de la toxine, et donc une plus ou moins grande résistance à sa pénétration dans l'organisme.

Quelques incertitudes demeurent quant à son rôle précis dans la pathogénie et son mécanisme d'action. En stimulant l'adénylcyclase membranaire, elle provoque une augmentation de l'AMPc. Les réactions en chaîne qui suivent aboutissent d'une part à la 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.

De nombreuses cellules de l'organisme possèdent des récepteurs membranaires à la toxine ϵ .

Selon le type de cellule ciblé, les conséquences sont variables.

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

Des pistes se dessinent : il a été démontré *in vitro* que la toxine ϵ seule n'avait pas d'action sur les cellules endothéliales. Ceci suppose action couplée avec d'autres toxines ou avec des molécules présentes dans le sang, ou encore en interaction avec la paroi des vaisseaux.

Pour éclairer ces hypothèses, la toxine ϵ purifiée a été injectée en intraveineuse chez l'agneau.

Des symptômes et des lésions identiques à ceux d'une entérotoxémie type D sont réapparus.

Le rôle de la toxine α ou des autres toxines ainsi que de *Clostridium* lui-même serait alors minime dans la pathogénie.

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

ACTION SUR L'ENDOTHÉLIUM DE L'ENCÉPHALE

Le modèle étudié jusqu'à ce jour est celui des cellules MDCK (Madin Darby Canine Kidney).

Ce sont des cellules épithéliales rénales, qui servent souvent comme modèle d'étude des épithéliums et endothéliums. La toxine ϵ s'associe à un récepteur spécifique présent sur la membrane des cellules MDCK, formant un complexe de 155 kDa. La cytotoxicité apparaît simultanément à la formation du complexe. Si ce mécanisme était valable dans l'encéphale, il expliquerait la dégénérescence et la nécrose spécifique des cellules endothéliales *in vivo*.

L'expérience a été reproduite, sans succès, sur des cellules endothéliales de la crosse aortique.

On ne peut pourtant pas conclure qu'un tel résultat serait obtenu avec les cellules endothéliales de l'encéphale car elles sont particulières : jonctions inter cellulaires serrées, faible taux d'endocytose, déficit en collagène périvasculaire, membrane basale épaissie et association intime avec les astrocytes.... Ces spécificités assurent l'efficacité de la barrière hémato-méningée à assurer l'homéostasie du milieu extra cellulaire céphalique. A ce titre, elles ne peuvent être étudiées de la même manière que les cellules endothéliales des vaisseaux.

ACTION SUR LES CELLULES NERVEUSES

La toxine 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.

La toxine ϵ agirait directement sur les astrocytes en perturbant la dynamique des fluides jusqu'à la mort cellulaire. Il est été mis en évidence que la toxine ϵ pouvait agir directement sur les neurones chez le rat, induisant leur dégénérescence et leur nécrose.

Les lésions cérébrales alors observées n'étaient pas dues à la microangiopathie.

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 restes le plus souvent intacts. Le récepteur serait présent chez les ovins et absent ou non fonctionnel chez les caprins.

CONSÉQUENCES LÉSIONNELLES DANS L'INTESTIN ET DANS L'ORGANISME

L'action sur les endothéliums permet une augmentation de la perméabilité vasculaire, donc la formation d'oedèmes. Il en résulte : oedème et nécrose du système nerveux responsables de troubles nerveux, oedème périvasculaire et intra lobulaire au niveau des poumons, oedème 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. Son utilisation pour le diagnostic d'entérotoxémie s'en trouve limitée. Pour le typage d'une souche isolée, elle reste très utile.

I.2.1.5 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 ADPribosyltransférase spécifique du groupement Actine. Le second composant fait le poids moléculaire de 71,5 kDa et n'a qu'un rôle liant.

Son activité consiste à désorganiser le cytosquelette cellulaire en inhibant la régénération de l'

I.2.1.6 Toxine θ

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

I.2.1.7 Entérotoxine

Elle est produite par la plupart des souches en phase de sporulation du *Clostridium* dans l'intestin. Elle est constituée d'une chaîne polypeptidique de 34 kDa. Sa nature biochimique la rend thermolabile : elle perd son pouvoir toxique grâce un chauffage de 10 minutes à 60°C.

L'entérotoxine agit sur la perméabilité membranaire aux acides aminés, ions, glucose, eau...de manière à inhiber la synthèse protéique, et par conséquent à diminuer la viabilité de la cellule. Son effet est donc principalement cytotoxique. Dans l'intestin, elle induit une réponse sécrétoire et de sérieuses lésions épithéliales. 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.

L'entérotoxine est active sur de nombreux types cellulaires : entérocytes, hépatocytes... grâce à la reconnaissance d'un récepteur protéique membranaire appelé CPE-R. Une étude révèle de nombreuses ressemblances structurales entre CPE-R et un récepteur membranaire est isolé chez la souris, sur culture de cellules endothéliales, par une technique d'hybridation d'ADN.

Ce récepteur est appelé MBEC1 (Mouse Brain EndothelialCells) et il est présent sur de nombreux endothéliums et épithéliums. Sa séquence en acides aminés a 71% de similarité avec celle de « human CPE-R » et aussi de nombreux domaines hydrophobes. Or chez la souris, le récepteur MBEC1 a été mis en évidence au niveau de nombreux organes : encéphale, endothéliums artériel et veineux, coeur, rate, rein, foie, pancréas, mésentère, épithélium pulmonaire, trachée ... Une voie de recherche reste à explorer pour connaître les modalités d'action de l'entérotoxine sur les organes cibles.

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

I.2.2.LES TOXINES DE *CLOSTRIDIUM SORDELLII*

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

I.2.2.1 Toxine HT

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

I.2.2.2 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 -chymotrypsine 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.

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

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 observé par inoculation intra péritonéale ou intra veineuse.

I.2.2.3 Rôle dans la pathogénie

Les avis divergent quant au rôle de *C. sordelli* dans la pathogénie des entérotoxémies. Il a été isolé seul ou associé à *Fusobacterium necrophorum*, *Clostridium bifermens* ou *Clostridium sporogenes* dans la caillette d'ovins morts d'entérotoxémie. Le rôle pathogène de ces germes anaérobies ayant été écarté, *C. sordelli* devient l'unique responsable de la mort des moutons

[Lewis et Naylor 1998]. Un autre argument est en faveur de sa pathogénicité : *C. sordelli* a été identifié que chez des animaux atteints d'entérotoxémie et semble absent chez l'animal sain. Pourtant, une étude récente révèle que les souches de *C. sordelli* isolées sur des bovins malades étaient négatives avec les sondes HT et LT. Un

résultat similaire a été obtenu sur des souches prélevées sur des ovins morts d'entérotoxémie. Il est donc peu probable que les toxines soient produites. De plus, ces souches sont biochimiquement proches de *C. bifermentis*, souche non pathogène.

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

I.2.3. LES TOXINES DE *CLOSTRIDIUM SEPTICUM*

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

La toxine α agit principalement dans l'intestin. *C. septicum* synthétise une protoxine, qui, une fois fixée sur son récepteur, est activée par les protéases digestives. Les différents peptides

ainsi activés migrent, se regroupent et forment un pore membranaire. Son action est létale, hémolytique et nécrotique.

La toxine β agit plutôt dans l'abomasum et a une activité désoxyribonucléase.

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

On distingue une variabilité spécifique au niveau de la sensibilité aux toxines. Les caprins seraient dépourvus de récepteurs à la toxine 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.

II.EPIDÉMIOLOGIE

II.1.EPIDEMIOLOGIE DESCRIPTIVE

II.1.1. ESPECES SENSIBLES ET REPARTITION GEOGRAPHIQUE

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 VI).

Tableau VI : Maladies associées aux divers toxinotypes (classification

<u>Toxinotype</u>	<u>Symptomatologie associée</u>	<u>Espèces cibles</u>	<u>Distribution</u>
A1	Gangrène gazeuse	Homme	Cosmopolite
	Mammite	Bovin	G-B, Japon
	Entérite nécrotique	Volaille	Cosmopolite
	Colite	Equins	Scandinavie
	Commensal de l'intestin, sol	Homme, animal	Cosmopolite
A2	Intoxication alimentaire	Homme	Cosmopolite
B1	Dysenterie de l'agneau	Ovins, bovins, équins	Afrique du Sud, G-B
B ₂	Entérotoxémie	Ovins, caprins	Iran
C1	Struck	Ovins	Afrique du Sud, G-B, Australie
C ₂	Entérite nécro-hémorragique	Ovins, bovins, équins	USA, G-B

traditionnelle) de *C. perfringens*, espèces cibles, répartition [Daube 1992].

C ₃	Entérite nécro-hémorragique	Porcelet	USA, G-B, Scandinavie
C ₄	Entérite nécro-hémorragique	Homme, volaille	Allemagne
C ₅	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. nouveaux cas chaque semaine ou chaque mois. De plus, la chèvre présente une forme chronique, individuelle, rare et souvent non diagnostiquée, de la maladie. Les mécanismes de la chronicité à l'échelle de l'élevage ou individuelle sont inconnus. La persistance des spores de *C. perfringens* dans l'environnement à un haut niveau suite à l'excrétion par de nombreux animaux malades ou porteur, peut générer de nouveau cas spontanément.

11.1.2. CATEGORIES D'ANIMAUX ATTEINTS

Le mode d'élevage intensif semble corrélé aux troubles entérotoxémiques. Les formes ovines et caprines ne sévissent pas dans les mêmes systèmes de production. Chez les ovins,

l'entérotoxémie frappe davantage les agneaux à l'engraissement. Pour la chèvre, l'affection est plus fréquente chez l'animal adulte en production. Le toxinotype majeur varie en fonction de l'âge et l'espèce (Tableau **VII**)

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

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

- non décrit

+ possible ou rare

++ courant

Les raisons de cette spécificité ne sont pas totalement expliquées. L'âge et le mode d'élevage sont 2 facteurs de risque de forte influence. (cf. partie II.2.3 Facteurs de risque).

L'entérotoxémie due à *C. perfringens* type A sévit davantage chez les adultes, les types B et C apparaissent essentiellement chez les nouveau-nés et le type D concerne tous les âges. *C. sordellii* et *C. septicum* étant rare, ils n'ont été que peu observés. *C. sordellii* apparaît à tout âge.

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

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

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

II. 2. EPIDEMIOLOGIE ANALYTIQUE

II.2.1. SOURCES

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

II.2.1.1 Les sols

Les sols souillés par les matières fécales peuvent contenir 10⁴ UFC/g. Cette valeur sous-estime probablement la charge réelle en bactérie, car le nombre de spore est souvent supérieur aux UFC. Les *clostridies* sporulés survivent de longues périodes dans les sols et l'environnement.

II.2.1.2 Le tractus digestif des animaux

1) CHEZ LES ANIMAUX NOUVEAUX NÉS

À 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 (<10³ UFC/g), elle est sensiblement plus élevée dans l'iléon (10⁴-10⁵ UFC/g) et peut être importante dans le caecum et les segments postérieurs (>10⁸ UFC/g).

Par la suite, la flore intestinale croît et le nombre de germes anaérobies se stabilise entre 10¹⁰ et 10¹¹ bactéries par gramme de contenu intestinal.

2) CHEZ LES ANIMAUX ADULTES

Sur 18 petits ruminants sains, *C. perfringens* et ses toxines ont pu être mis en évidence chez 13 individus, les 5 autres étaient indemnes de clostridies. L'analyse génétique des souches de *C. perfringens* prélevées sur ces 13 ovins et caprins, révèle la présence de la toxine α dans 100% des prélèvements et de la toxine ϵ dans 15% des prélèvements.

Une autre 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.

II.2.2. CONTAMINATION

II.2.2.1 Contamination par *C. perfringens*

CHEZ LE NOUVEAU NE

La contamination orale par un *Clostridium* toxinogène 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 répressifs de la flore digestive. La bactérie se multiplie jusqu'à 10⁹ UFC/g. *C. perfringens* types B et C se rencontrent dans le cadre d'une entérotoxémie chez les animaux de moins de 3 jours.

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

CHEZ LE JEUNE ET L'ADULTE

L'analyse génétique de souches pathogènes de *C. perfringens* type A chez des veaux malades a prouvé qu'elles étaient résidentes du tube digestif, et non des souches spécifiques. *iumne* 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 le duodénum.

d'entérotoxémie, particulièrement pathogènes et venues de l'extérieur. Il a été également prouvé que la simple ingestion de *Clostrid*

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.

II.2.2.2 Contamination par *C. sordellii* et *C. septicum*

C. sordellii 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.

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.

II.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.

II.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. D'une manière générale, ils potentialisent le développement et l'action de *Clostridium*.

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 oligo-peptides

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.

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.

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 granulés n'induisent pas systématiquement une entérite clostridienne, mais ils constituent un facteur de risque probablement sous estimé.

Traitements

Des surdosages de netobimin (Hapadex®) à hauteur de 4 fois la dose normale autorisée pour les chèvres et 7 fois la dose chez le bouc, se sont avérés responsables de cas d'entérotoxémie.

Chez les caprins, le surdosage des anthelminthiques est fréquent pour deux raisons : l'utilisation hors AMM chez les caprins, l'administration parfois volontairement de doses doubles, et le drogage en dose unique pour l'ensemble du troupeau.

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*

II.2.3.2 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

II.2.3.3 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

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.

II.2.4. SENSIBILITÉ SPÉCIFIQUE

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

II.2.4.1 Prédisposition raciale

SENSIBILITÉ DIGESTIVE : LES HYPOTHÈSES D'HIER ET D'AUJOURD'HUI

L'entérotoxémie caprine se caractérise par une entéro-colite parfois associée à une toxémie.

Les ovins présentent au contraire peu de signes digestifs, mais des symptômes généraux et nerveux (*cf.* III. Etude clinique). Par ailleurs, certaines races caprines sont particulièrement vulnérables.

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

Les facteurs de sensibilité aux toxines ne sont pas encore clairement établis. Plusieurs hypothèses sont émises mais aucune n'a été confirmée à ce jour

Sensibilité de la muqueuse digestive

Chez les ovins, les lésions digestives sont rares et concernent préférentiellement l'intestin grêle. L'abrasion de la muqueuse duodénale et jéjunale permet la pénétration de la toxine dans l'organisme, donc des effets systémiques. Au contraire, chez les caprins, les lésions sont situées en aval, au niveau du caecum et du colon. On pose alors l'hypothèse que si l'intestin grêle des chèvres était plus résistant aux effets des toxines, alors le risque d'intoxication sanguine diminuerait par défaut pénétration des toxines dans l'organisme. Les effets systémiques seraient moindres. En revanche, les toxines resteraient concentrées dans le tractus intestinal, ce qui augmenterait l'exposition de la muqueuse des segments distaux. La paroi du gros intestin étant de surcroît plus sensible, subirait alors d'importantes lésions de colite et de typhlite. Des expérimentations ont été menées pour étudier les effets de la toxine ϵ chez les ovins et les caprins, et de la toxine α chez les ovins sur les différentes portions du tractus digestif. Les résultats n'ont pas mis en évidence une différence de sensibilité au niveau de la muqueuse intestinale quel que soit le segment et quelle soit l'espèce étudiés.

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

Durée du transit digestif

Chez la chèvre adulte, le bol alimentaire séjourne 3 heures dans l'intestin grêle et 18 heures dans le colon. Le transit digestif est plus rapide chez les ovins, notamment au niveau du gros intestin. La rapidité de prolifération des clostridies dans le colon et une longue exposition à l'action des toxines pourraient expliquer l'ampleur des lésions coliques chez les caprins. Une expérience infirme cette hypothèse : un chevreau développe une colite hémorragique et nécrotique moins de 5 heures après inoculation intra-duodénale de *C. perfringens* type D. Par ailleurs, le ralentissement du péristaltisme chez le mouton sous l'effet d'opium et *Belladonna* ne permet pas d'obtenir des lésions coliques similaires à celle des caprins. La gravité des symptômes

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

Action des enzymes digestives sur les toxines

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

Cette supposition ne peut donc pas expliquer l'inconstance des lésions digestives chez les ovins et la gravité des lésions coliques chez les caprins

Immunité acquise naturellement

Une infection subclinique permettrait l'absorption de toxine ϵ à dose infime mais suffisante pour stimuler le système immunitaire. Des animaux sains et sans antécédent d'entérotoxémie clinique ni de vaccination peuvent alors présenter des anticorps sériques antitoxine ϵ . Dans certains cas, ce titre d'anticorps serait suffisant pour protéger d'une infection (0,1 UI /mL).

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

SENSIBILITE DES CELLULES CEPHALIQUES

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'oedèmes. Chez les ovins, les signes nerveux dus à l'oedème cérébral dominent le tableau clinique. Mais chez les caprins, les troubles neurologiques sont beaucoup moins fréquents et les convulsions peuvent être attribuées à l'hypoxie générée par l'oedème pulmonaire. Le rôle de la toxine 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.

II.2.4.2Age

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. 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.

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 caecales et coliques. 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 latoxine 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 latoxine 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 (cf. 1.2.1.1 Toxine α).

1. ETUDE CLINIQUE

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

II.3. SYMPTOMES

II.3.1. ENTÉROTOXÉMIE À *C. PERFRINGENS* TYPE A

Entérotoxémie catégorie 1

Synonyme : maladie de l'agneau jaune

L'entérotoxémie type A concerne les ovins et les caprins de tous âges. 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 aigu 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 hépato-biliaire, intoxication. On peut y ajouter également une autre clostridies, qui sévit davantage chez les bovins : l'hémoglobinurie bacillaire. Le chevreau développe une forme suraiguë différente de la « maladie de l'agneau jaune ».

Elle est marquée par de fortes vocalisations, un pédalage, une hypothermie à 36,2°C et l'absence de défécation. L'animal meurt en moins de 12 heures. Cette forme a été observée chez des chevreaux de race Boer. La maladie résulterait de l'action synergique des toxines α et β_2

.II.3.2.ENTÉROTOXÉMIE A *C. PERFRINGENS* TYPE B

Entérotoxémie catégorie 2

Synonyme : dysenterie de l'agneau.

C'est un épisode aigu de diarrhée le plus souvent fatal, qui se déclare chez les agneaux de 1 à 15 jours. Dans les cas les moins foudroyants on observe une anorexie, un abattement, un décubitus et une diarrhée sanguinolente en phase terminale. Une phase de coma ou de convulsions est suivie du décès de l'animal. Cette affection est à distinguer des autres causes de diarrhée néonatale de l'agneau : colibacillose, cryptosporidiose, virose digestive (coronavirus et rotavirus), salmonellose. Le diagnostic de l'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.

Chez le mouton et la chèvre adulte, *C. perfringens* type B provoque une entérite hémorragique probablement due aux effets de la toxine ϵ .

II.3.3.ENTÉROTOXÉMIE À *C. PERFRINGENS* TYPE C

Entérotoxémie catégorie 2

Synonyme : entérite hémorragique de l'agneau, « struckdisease »

C'est une entérite hémorragique et nécrotique néonatale de l'agneau, de moins de 3 jours.

L'espèce caprine n'est *a priori* pas concernée malgré quelques suspicions chez le chevreau.

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. 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 pisthotonos.

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

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 « struckdisease », qui signifie « bloqué ». Le tableau clinique ressemble à celui de l'entérotoxémie de type D : mortalité brutale, abatement profond, convulsions, coma et mort.

II.3.4. ENTÉROTOXÉMIE À *C. PERFRINGENS* TYPE D

Entérotoxémie catégorie 3

Synonyme : maladie du rein pulpeux.

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

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

II.3.4.1 Entérotoxémie de type D des ovins

Les symptômes nerveux dominent le tableau clinique : ataxie précoce, diminution des réflexes, puis léthargie, décubitus latéral, pédalage, convulsions et opisthotonos en fin d'évolution. Le réflexe pupillaire est en général conservé, mais il y a disparition du clignement à la menace, 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.

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

L'entérotoxémie ovine doit être différenciée d'autres causes de mort subite avec troubles du système nerveux : polioencéphalomalacie, intoxication par les plantes (Colchique, Grande Ciguë, If, Oenanthe Safranée, Rhododendron, toxémie de gestation, hypocalcémie, hypomagnésémie, hypoglycémie, traumatisme crânien, méningite, indigestion de sel ou privation d'eau ; et avec affection gastro-intestinale : parasitisme, intoxication, acidose ruminale, salmonellose, entérite virale. L'évolution de la maladie est rapide, aiguë et l'animal succombe en quelques heures.

II.3.4.2 Entérotoxémie de type D des caprins

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

FORME SURAIGUË

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

En fin d'évolution l'animal est couché, en état de choc sévère, parfois en opisthotonos et présente une tachypnée, une salivation intense et des convulsions. La mort survient moins de 24 heures après l'apparition des symptômes.

FORME AIGUË

C'est la forme d'entérotoxémie la plus fréquente chez l'adulte, même *a priori* bien vacciné.

Les symptômes sont identiques à la forme suraiguë mais la maladie évolue sur 2 ou 4 jours.

La diarrhée fibrino-hémorragique domine toujours le tableau clinique. Des complications consécutives aux pertes liquidiennes peuvent apparaître : acidose métabolique et déshydratation intense. Un traitement précoce peut alors être mis en place. L'administration de sérum antitoxine ϵ (cf. V.2.3. Sérothérapie) aide d'une part à la guérison et d'autre part à confirmer le diagnostic, si l'animal répond favorablement à ce traitement.

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

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. Les examens complémentaires nécessaires sont d'abord la coprologie pour des recherches bactériologiques ou la mise en évidence des parasites ou de leurs oeufs. Des tests de résistance aux antiparasitaires peuvent être mis en oeuvre 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)

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.

Tableau VIII : Etude clinique de l' entérotoxémie type D chez les ovins et les caprins.

Fréquence relative des symptômes décrits dans la bibliographie [Blackwell et al. 1991, Chartier 2002, Clark 2003, Popoff 1994, Uzal 2004, Van Metre et al. 2000].

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

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

I.3.5.ENTÉROTOXÉMIE À C. PERFRINGENS E

Entérotoxémie catégorie 4.

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.

II.3.6. ENTÉROTOXÉMIE À *C. SORDELLII*

C. sordellii atteint les ovins et les caprins de tout âge, les agneaux sont plus fréquemment touchés. Cependant il est rarement isolé, et peu de cas sont décrits. Par ailleurs, sa pathogénicité est contestée car les souches isolées chez des animaux entérotoxémiques ne semblent pas être virulentes (cf. I.2.2.3. Rôle dans la pathogénie). Il serait responsable de mort subite. Les signes cliniques rapportés sont principalement des signes digestifs d'entérite et d'abomasite, et des signes de toxémie.

Le diagnostic différentiel chez le nouveau-né est surtout à établir avec la septicémie à *Manheimia haemolytica*. Chez les animaux plus âgés, l'affection doit être distinguée d'une salmonellose à *Salmonella* Thyphimurium, d'une listériose à *Listeria monocytogenes*, et d'autres clostridioses.

II.3.7. ENTÉROTOXÉMIE À *C. SEPTICUM*

Synonyme : Braxy, Bradsot, oedème 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.

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

II.4.LESIONS

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.

II.4.1.ETUDE MACROSCOPIQUE

II.4.1.1Entérotoxémie de type A, maladie de l'agneau jaune

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

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

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

II.4.1.2 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. Ces lésions d'entérite hémorragique se rencontrent chez les ovins et les caprins.

II.4.1.3 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 masclé, révèle ensuite la présence de sang, de nombreux débris de muqueuse et des placards de fibrine. Un rein pulpeux peut être observé.

II.4.1.4 Entérotoxémie de type D (Tableau VIII)

Les animaux présentant peu de signes cliniques sont en général dépourvus de lésions macroscopiques.

1) FORME OVINE

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.

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 :

Coeur

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

Poumon

Les cavités de l'organisme sont remplies d'un liquide d'épanchement séreux ou L'œdème pulmonaire sévère est un signe fréquent. Les poumons sont rouges, mouillés, lourds et collabés. Le septum interlobaire est rempli de liquide.

Noeuds lymphatiques

Ils sont hypertrophiés, en particulier les noeuds 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 hyperhémée. Le jéjunum est le segment le plus lésé. On y observe une entérite hémorragique et le contenu est sanguinolent.



Figure 3 : Entérotaxémie ovine. Jéjunum hémorragique [C. Manteca CEVA SA].

>Foie

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



**Figure4 : Entérotoxémie ovine.
Congestion hépatique.
[C. Manteca CEVA SA].**

>Rein

Il subit une dégénérescence *post mortem* particulière. 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 ».

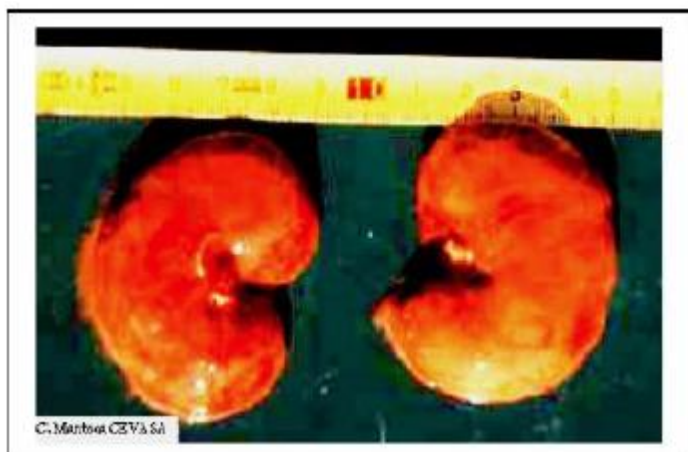


Figure5 : Entérotoxémie ovine. Reins pulpeux [C. Manteca CEVA SA].

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

avec une autolyse normale ; ce critère n'est pas pathognomonique.

>Encéphale

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

2) FORME CAPRINE

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

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

Tractus digestif

Les lésions digestives sont prédominantes. 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 fibrinohémorragiques,

accompagnées d'un œdème du mésentère adjacent. La séreuse est fortement œdématisée, congestionnée et hyperhémique. Des portions de la muqueuse sont nécrosées ou ulcérées et recouvertes de pseudo-membranes blanches. La lumière du tractus digestif contient des débris de muqueuse, du sang et de la fibrine.



Figure 6 : Entérotoxémie caprine. Entérite et colite hémorragique [AFSSA Niort].



Figure 7 : Entérotoxémie caprine. Inflammation du caecum (Trevennec, 2007)

>*Encéphale*

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

>*Autres organes*

De la même manière que chez les ovins, d'autres organes sont congestionnés et oedématiés.

L'oedème pulmonaire est une lésion également courante.

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

Les lésions provoquées par *C. perfringens* type D chez les ovins et les caprins sont en accord avec les principaux symptômes qui dominent le tableau clinique d'entérotoxémie

dans chacune de ces espèces. La principale différence est le degré de lésion du tractus gastro-intestinal. Les caprins présentent des lésions essentiellement et parfois exclusivement abdominales et digestives, avec une prédominance dans les parties distales de l'intestin. Les ovins présentent plutôt des altérations généralisées liées à la toxémie et les lésions digestives

ne sont pas systématiques.

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

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

Tableau IX: Grille des lésions nécropsiques d' entérotoxémie type D

[Blackwell et al. 1991, Ferrer et al. 2002, Popoff 1994, Uzal et Kelly, 1998, Uzal 2004]

+++ Très fréquent
 ++ Fréquent
 + Possible

- Absent ou non décrit

II.4.1.5 Entérotoxémie à *C. sordellii*

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

>Agneaux de 3-10 semaines

Un oedème sous cutané peut être observé. La cavité abdominale subit une dilatation modérée,

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

Les reins présentent quelques signes d'autolyse.

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

>Agneaux de 4-6 mois

A cet âge, les lésions liées à la toxémie prédominent : congestion et hémorragie des muscles, noeuds lymphatiques, vaisseaux sanguins. Quelques cas d'oedème sous cutané sont décrits. La cavité abdominale est remplie d'un liquide d'épanchement séro-hémorragique. Les reins subissent une autolyse précoce et le foie est hypertrophié. L'abomasum reste en position normale, mais la muqueuse est fortement congestionnée et ulcérée. Les autres segments du tractus digestif sont normaux, avec parfois une météorisation du caecum ou quelques hémorragies de la muqueuse. La cavité thoracique présente dans la moitié des cas des pétéchies et hémorragies principalement sur le thymus et le péricarde.

>Adulte

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

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

II.4.1.6 Entérotoxémie à *C. septicum*

L'autopsie des ovins révèle une inflammation aigue de la caillette. La muqueuse et la sous muqueuse abomasales sont oedématisées et hémorragiques. Des ulcérations sont parfois décelées. Les anses intestinales sont souvent distendues par les gaz. Des épanchements séreux sont parfois visibles dans les cavités abdominales, thoraciques et péricardiques. Les séreuses (mésentère, épicarde, endocarde, plèvres...) présentent des pétéchies. [Popoff 1994] Le nombre de cas extrêmement faible d'entérotoxémie à *C. septicum* chez les caprins explique pourquoi peu de publications ont été faites à ce sujet. La bibliographie ne détaille pas les lésions observées lors des autopsies.

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

Les entérotoxémies dues à *C. perfringens* sont davantage décrites. Chez le jeune, les formes digestives prédominent. Mais chez l'adulte, la localisation des lésions varie selon l'espèce:

les ovins présentent majoritairement des lésions généralisées concernant de nombreux organes, alors que les caprins ne présentent que des lésions localisées, principalement digestives. Les ovins arborent également des lésions au niveau de l'encéphale. Cette disparité lésionnelle est le reflet de l'expression clinique de la maladie.

II.4.2. ETUDE HISTOLOGIQUE

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

>Poumons

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

>Foie

La section du foie chez l'agneau révèle une légère congestion, avec une teneur en glycogène variable. La vacuolisation des hépatocyte reste normale. Chez le chevreau, l'étude histologique du foie est normale.

>**Intestin grêle**

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

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

>**Gros intestin**

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

>**Rein**

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

l'histologie du rein ne peut constituer une preuve diagnostique. L'examen histologique du rein chez l'agneau et chez le chevreau est normal, s'il a lieu immédiatement après la mort.

L'agneau peut toutefois présenter des hémorragies multifocales corticales. Dans le cas d'un examen quelques heures après la mort, on observe une autolyse cellulaire des tubules proximaux et distaux chez les ovins

>***Vaisseaux sanguins***

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

>***Vaisseaux lymphatiques***

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

>***Encéphale***

Peu de lésions sont observables chez la chèvre. L'injection de toxine ϵ chez le chevreau provoque une symptomatologie nerveuse, mais aucune lésion cérébrale n'apparaît. Le chevreau peut tolérer les mêmes doses de toxine ϵ que l'agneau sans développer aucune lésion céphalique. Les symptômes nerveux tels que les convulsions et le pédalage sont probablement dus à l'hypoxie induite par l'oedème pulmonaire et non aux effets de la toxine ϵ sur l'encéphale. Dans les formes suraiguës et aiguës, on peut toutefois observer un oedème homogène acidophile périvasculaire (surtout les artères) de la capsule interne et des *coliculi*

ainsi qu'une dégénérescence de la substance blanche. Les lésions sont symétriques et bilatérales.

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

un gonflement des astrocytes et des axones, et une vacuolisation des cellules gliales. La localisation des foyers d'encéphalomalacie est symétrique et bilatérale. Ces lésions se situent sur la capsule interne, le thalamus, les pédoncules cérébelleux et le *cerebellum*. La sévérité des lésions est directement liée à la quantité de toxine présente dans le milieu

Les lésions de l'encéphale constituent une aide diagnostique précieuse car il semblerait qu'elles soient caractéristiques de l'infection à *C. perfringens* type D. Elles sont

constantes chez les ovins, mais très variables chez les caprins. L'inconstance de ces lésions diminue leur utilité diagnostique chez la chèvre.

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

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

II.5.DIAGNOSTIC

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

II.5.1.PRÉLÈVEMENTS

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

II.5.1.1 Tractus et contenu digestif

Le prélèvement est effectué dans les heures qui suivent la mort, soit 6 heures *post mortem* pour une recherche de toxine, 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 ». 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.

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. Dans la seconde, des portions de tractus digestif d'environ 15 cm sont prélevées et ligaturé de manière à préserver l'anaérobiose. Dans ce cas, le dénombrement bactérien risque d'être sous estimé, donc peu fiable.

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. 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. 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.

II.5.1.2 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 manoeuvre est sans danger, même sur un animal très abattu. Au cours d'une autopsie, le prélèvement d'urine est riche d'enseignement (*cf.* III.3.2.5.1). Cet acte quasi indispensable chez les ovins n'est pas forcément réaliser chez les caprins En effet, chez les ovins, la présence de glucose dans les urines est quasi constante, alors que dans l'espèce caprine, l'inconstance de la glucosurie rend se paramètre peu fiable.

II.5.1.3Liquide 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'entérotoxémie est relativement constante.

II.5.1.4Tissus 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. La congélation des prélèvements est possible (sauf en vue d'un examen bactériologique). Elle évite la labilité de la toxine ϵ , mais elle 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%. 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

II.5.1.5Sang

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

II.5.2.MÉTHODES DIAGNOSTIQUES

II.5.2.1Étude 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*.

IDENTIFICATION

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

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. 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)

Chez l'adulte

La plupart des auteurs s'accorde à penser que l'isolement de *Clostridium perfringens* types A et D chez les ovins n'est en aucun cas témoin de clostridiose, puisqu'ils sont naturellement présents dans le tube digestif. Une enquête effectuée chez les caprins, indique que seulement 61% des chèvres saines hébergent des clostridies dans leur intestin et que 3% uniquement hébergent *Clostridium perfringens* type D. L'isolement de cette bactérie sur une chèvre suspecte d'entérotoxémie serait un indicateur très important. Un résultat négatif ne permet pourtant pas d'exclure une infection à *Clostridium perfringens* type D. Bien que *Clostridiumperfringens* types B et C aient été isolés récemment sur des moutons sains, certains auteurs croient en la valeur diagnostique de leur isolement. Ils ont également été isolés sur des chèvres saines.

Chez le jeune

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

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

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

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

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

DÉNOMBREMENT

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

Au moment de la mort, les fractions bactériennes augmentent. Il n'y a pas de différence significative d'augmentation relative des coliformes et des entérocoques en fonction de l'origine de la mort (entérotoxémie ou autre). En revanche, l'augmentation des sulfitoréducteurs (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 10⁷ UFC/mL dans l'intestin grêle dans les 6 premières heures. La concentration de *C. perfringens* augmente lentement dans la caillette et le caecum des ruminants.¹¹ existe 2 seuils au-delà desquels il y a maladie. Si on dénombre plus de 10⁶ UFC/mL sur un prélèvement issu d'un animal cliniquement suspect, on considère que l'animal était atteint d'entérotoxémie. Cette valeur est valable après une culture sur milieu TSN®. De plus, les conditions de prélèvement et de

conservation suivantes sont indispensables : prélèvement effectué dans les heures qui suivent la mort et conservation en anaérobiose pendant 24h à 4°C.

Pour une culture sur gélose au sang, avec de la cyclosérine et en chambre anaérobie, la valeur seuil sera 10⁸ UFC/mL. De même, hors données épidémiologiques, on considère qu'il y a maladie si on dénombre plus de 10⁸ UFC/mL chez les bovins. 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.

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

L'identification de *Clostridium* dans l'intestin s'interprète de façon différente selon le type de *Clostridium* et son hôte. Chez le jeune, la mise en évidence de *C. perfringens* types B et C a une valeur diagnostique considérée comme étant fiable. Chez l'adulte, l'identification de *C. perfringens* type A n'a aucun intérêt diagnostique tant chez les ovins que chez les caprins. En revanche, *C. perfringens* type D étant rare chez les chèvres saines, son identification dans le tractus digestif est un bon indicateur d'entérotoxémie. Des données comparatives concernant la cinétique de croissance bactérienne *post mortem* chez l'animal sain et l'animal mort d'entérotoxémie seraient intéressantes. Les chiffres actuellement disponibles sur le dénombrement bactérien dans le contenu intestinal sont issus d'études sur les bovins et plus rarement sur les petits ruminants. Dans ce contexte, une comparaison ovin/caprin est aujourd'hui impossible.

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

II.5.2.2Le 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.

MOUSE NEUTRALISATION TEST(MNT)

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

Le principe est d'injecter à une souris des toxines et les anticorps présumés correspondants.

La mort de l'animal signifie qu'on lui a injecté une toxine sans son anticorps neutralisant. On peut alors déduire le type de toxine responsable du décès.

Cette méthode est sensible et spécifique. Elle pose cependant un problème éthique.

ELISA SUR CONTENU INTESTINAL OU SUR SEROSITE

Définition : Enzyme Linked Immunosorbent Assay

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

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.

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 toxine. Faute de définition d'un seuil approprié, il devient impossible de différencier un animal sain d'un animal malade. Le test MNT serait plus approprié car il est beaucoup moins sensible. Il ne détecte pas les faibles taux de toxine α et ne fournit un résultat positif que sur les animaux malades uniquement.

Toxines

Il a été démontré que de faibles taux de toxine ϵ existaient chez les animaux sains. Dans ce cas, les tests conventionnels ne détectent *a 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.

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'entérotaxémie, 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.

AGGLUION TINATSUR BILLES DE LATEX

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

Ce test est réactualisé pour la détection de la toxine 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.

PCR (POLYMERASE CHAIN REACTION)

La pcr est un test qualitatif, qui offre une sensibilité élevée. Tous les gènes présents, même les plus instables car localisés sur les plasmides (gène de la toxine 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 .

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.

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

Par ailleurs, la PCR devient un sujet à controverse dans la mesure où la détection d'un gène ne signifie pas qu'il a été exprimé. L'amplification de gène de toxine ne permet

donc pas d'affirmer que cette toxine était présente dans le prélèvement. Elle permet seulement de typer

les clostridies dans le tractus digestif, sans pour autant confirmer leur rôle dans le processus pathologique.

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 oeuvre 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.

II.5.2.3 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. 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.

II.5.2.4 Sérologie

Chez les ovins, la majeure partie des signes cliniques et des lésions est attribuée à la toxine ϵ .

Chez les caprins, l'importance relative de chacune des toxines n'a pas encore été évaluée.

Clostridium perfringens type D produit aussi la toxine α et plusieurs toxines mineures.

Il est possible que les lésions résultent d'un effet combiné de ces toxines.

En pratique, on recherche uniquement la présence des anticorps anti-toxine ϵ dans le sang, via un test ELISA.

II.5.2.5 Etude des modifications due à l'intoxication

URINE

Les urines sont analysées avec une bandelette réactive.

pH urinaire

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

Cétonurie

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

Protéinurie

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

Glucosurie

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

L'induction expérimentale d'une entérotoxémie de type D chez l'agneau, induit systématiquement une glucosurie.

La présence de glucose dans les urines est donc un indicateur important de la maladie, mais les avis divergent quant à sa valeur diagnostique. M. Popoff en 1979 a trouvé que parmi 47 cas autopsiés pour entérotoxémie, il y avait 100% de glucosurie positive.

Il en a déduit qu'une absence de glucosurie permettait d'exclure avec certitude une suspicion de la maladie chez les ovins. Selon ce même auteur, une glucosurie massive sans aucun autre symptôme chez un agneau (ovin de moins de 6 mois), serait le signe d'une entérotoxémie à *C. perfringens*. Un ovin adulte présentant des troubles nerveux associés à une glucosurie massive avec un pH urinaire acide ou neutre serait atteint d'entérotoxémie

Au contraire des études plus récentes montrent que ce paramètre est inconstant. FA. Trouve que seulement 50% des ovins chez qui il a induit une entérotoxémie, ont une glucosurie positive. L'absence de glucose dans les urines n'est pas un argument suffisant pour exclure le diagnostic d'entérotoxémie.

Chez la chèvre, la glucosurie est un paramètre inconstant. Son absence n'est pas rare et sa mise en évidence doit être associée aux signes cliniques. Une valeur de glucose urinaire comprise entre 50 et 300 mg/dL, est fortement indicatrice d'entérotoxémie. La glucosurie constitue donc une aide diagnostique importante chez les petits ruminants, surtout chez les ovins et de façon moindre chez les caprins. Ce paramètre renforce une suspicion clinique, mais n'est pas suffisant pour confirmer un diagnostic d'entérotoxémie.

Une entérotoxémie à *C. sordellii* provoque jamais de glucosurie. Si on suspecte cette bactérie comme responsable de la maladie, et qu'une glucosurie est détectée, c'est qu'il y a une affection concomitante. La recherche du glucose dans les urines est un élément important du diagnostic différentiel entre *C. sordellii* et *C. perfringens*.

LIQUIDE PÉRICARDIQUE

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

Urémie et créatinémie

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

Glycémie Chez les ovins, elle peut atteindre une valeur triple de la valeur normale, soit entre 120 et 250mg/100 ml.

L'induction expérimentale d'une entérotoxémie de type D chez l'agneau et le chevreau provoque une augmentation similaire de la glycémie dans les 2 espèces. Les chevreaux subissent une augmentation moindre, mais la différence n'est *a priori* pas significative.

Formule sanguine

Chez les animaux vivants la numération cellulaire augmente rapidement à 16 000 leucocytes/mm³ et peut plafonner à 47 000 leucocytes/mm³. La mesure des taux de leucocytes permettrait une détection précoce des animaux infectés.

Ionogramme

Les ions K⁺, Na⁺ et Cl⁻ semblent conserver une valeur normale.

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

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

Les examens le plus fréquemment effectués sont : l'identification et le dénombrement après culture cellulaire puis éventuellement le typage par test ELISA. Les résultats sont fournis d'après des normes bovines en général. Les autres techniques diagnostiques ne sont utilisées que dans le domaine de la recherche.

2. MOYENS DE LUTTE

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

II.6.TRAITEMENT

II.6.1.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. 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.

II.6.2.MESURES MÉDICALES

II.6.2.1 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 glucosé est de rigueur. Des hépato-protecteurs et des analeptiques cardiorespiratoires peuvent également être administrés 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

II.6.2.2 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 est pas inactivée : les antibiotiques n'ont donc que peu d'effets sur les stades avancés de la maladie

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

L'antibiothérapie échoue très souvent. Lors d'infection à *C. septicum*, on suppose que la raison de cet échec est encore hypothétique, mais on pense qu'on peut l'attribuer aux protoxines 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.

II.6.2.3 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

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.

II.7. PROPHYLAXIE

II.7.1. MAÎTRISE DES FACTEURS DE RISQUE

La maîtrise des facteurs de risque débute par la gestion du rationnement : il faut éviter les rations acidogènes, les pâturages luxuriants et prévoir des périodes de transition alimentaires.

Il est donc recommandé de mesurer la qualité et la quantité des aliments en fonction du stade physiologique des animaux : composants de la ration (taux en glucides à fermentation rapide, pH des ensilages), taille des particules (40% de la MS sous forme de particules supérieures à 2 mm), rapport concentrés/fourrages environ 40%.

Mais la restriction alimentaire est en contradiction avec les objectifs de production, d'autant plus que les élevages intensifs ou semi-intensifs sont les plus en proie aux entérotoxémies.

Les éleveurs sont tenus de trouver un compromis entre l'hygiène alimentaire du troupeau et la production.

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

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

II.7.2. VACCINATION

La majorité des vaccins vendus sont prévus pour les bovins et les ovins (Tableau XI).

Tableau XI : Quelques vaccins vétérinaires contre l'entérotoxémie disponibles

[Shoenian 2005]

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

dans le monde

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

La vaccination contre l'entérotoxémie est un acte répandu en élevage de petits ruminants, car la maîtrise totale des facteurs de risque étant difficile, elle semble être

l'une des meilleures manières de se protéger de la maladie. 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.

II.7.2.3 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.

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.

RÉACTION AU LE SITE D'INJECTION

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

Il existe une réaction inflammatoire de 2-3 cm de diamètre au niveau du site d'injection. On ne détecte pas de différence significative de l'inflammation, entre ovins et caprins le lendemain de la vaccination. Sur la période 7-14 jours post injection, les ovins réagissent davantage : inflammation plus étendue, sur un plus grand nombre d'individus. L'écart diminue après 28 jours.

La réaction inflammatoire est encore palpable sur 53% des chèvres 6 mois après. Pour cette raison, l'injection est pratiquée sur la nuque ou derrière les oreilles, de manière à préserver la carcasse. De plus, il est important de choisir un site d'injection loin des noeuds lymphatiques, afin d'éviter toute confusion avec une lymphadénite caséuse. La réaction au site d'injection semble être corrélée avec la réponse humorale 14 jours post injection.

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

II.7.2.4 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.

TAUX D'ANTICORPS PRÉ-VACCINAL

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

On connaît depuis longtemps l'existence d'une immunité naturelle à *C. perfringens* chez les ovins. Cette séroconversion est acquise progressivement grâce à la présence de *C. perfringens* et la sécrétion de toxines en faible quantité dans l'intestin des animaux sains.

On considère que chez les ovins, le taux d'anticorps pré-vaccinal est supérieur de 17% à celui des caprins.

Dans l'espèce caprine, la moitié des individus issus d'élevage indemne d'entérotoxémie possède un titre en anticorps anti-toxine ϵ non nul avant la première injection de vaccination.

Mais il est insuffisant pour fournir une protection contre la maladie.

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

RÉPONSE ANTICORPS APRÈS INJECTION

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

Seuils protecteurs

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

Chez les caprins, les seuils de protections ne sont pas clairement établis. En 1960, une valeur limite protectrice est définie à 0,15 UI/ml. En 1983 les individus sont classés en 3 groupes.

Pour être protégées, les chèvres doivent présenter une concentration en anti-toxine ϵ

supérieure à 1 UI/ml. Les sujets présentant des valeurs comprises entre 0,1 et 1 UI/ml sont classés comme individus à risque et ceux possédant un taux inférieur à 0,1 UI/ml ne sont pas protégés.

Plus tard en 1998, les résultats suivants sont obtenus: les animaux présentant un taux supérieur à 2,45 UI/ml sont protégés à la fois contre les effets systémiques et digestifs, tandis que les animaux présentant un taux compris entre 0,22 et 1,52 UI/ml développent une légère diarrhée sans trouble systémique. Toujours en 1998, les mêmes auteurs définissent arbitrairement une valeur protectrice de 0,25 UI/ml.

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

Amplitude de la réponse anticorps

Un pic sérique est obtenu entre le 14^{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.

Les caprins sont en proie à de fortes variations individuelles pouvant atteindre 100 UI/ml

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

Persistance du taux d'anticorps

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

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. La question de l'application de ce délai avec des vaccins commercialisés (souvent multivalents) reste posée

Chez les caprins

Le titre en anticorps passe en deçà 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

La vaccination contre l'entérotoxémie se révélerait alors coûteuse et chronophage pour les éleveurs et problématique sur le choix du site d'injection

Les chèvres reçoivent en pratique double dose de vaccin et un rappel tous les 6 mois (exemple donné avec Tasvax®, Covexin® 8 et Heptavac®)

PROTECTION PERMISE PAR LA VACCINATION

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

>Hypothèse

L'hypothèse première est fondée sur l'expression clinique de la maladie. *C. perfringens* pénètre « facilement » dans l'organisme des ovins et ses effets sont systémiques. La vaccination des ovins est efficace car les anticorps vaccinaux protègent contre la

toxémie. Au contraire chez les caprins, la bactérie exerce son pouvoir pathogène dans l'intestin, là où les anticorps vaccinaux sont faiblement présents. Il a été suggéré que l'immunisation des chèvres avec des anticorps anti-toxine ϵ par voie parentérale, offrait une protection uniquement contre les effets systémiques de la maladie et non contre les dommages intestinaux et ceux causés par les autres toxines clostridiennes. La vaccination des chèvres est remise en cause sérieusement.

>L'immunité de la muqueuse intestinale

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

L'immunisation par voie parentérale stimule la production IgG1. Mais il est reconnu que l'immunité de la muqueuse est réalisée par les IgA et que les IgE constituent une seconde ligne de défense. Les IgA luttent contre l'absorption des bactéries et des toxines en bloquant leur adhésion à la paroi intestinale. Leur action est double : elles protègent contre les effets délétères des toxines sur la muqueuse intestinale et elles diminuent leur action systémique en limitant leur absorption dans l'organisme.

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

Mais le rôle des IgE et des IgG dans la protection de la muqueuse intestinale n'est que secondaire car la muqueuse intestinale des ruminants ne secrète qu'un faible taux d'IgE. De plus, une étude sur des ovins montre que les IgG issues du plasma sanguin ne représentent que 1/6ème des immunoglobulines prélevées dans la lumière intestinale.

>L'immunité sérique

Bien que le taux d'IgA dans la muqueuse intestinale soit indépendant du taux sérique en IgG,

il y aurait une corrélation entre la protection contre les effets locaux de la toxine et la concentration en anticorps sériques. En effet, les animaux vaccinés ne développent pas la maladie ou présentent simplement des symptômes digestifs atténués. Les animaux non vaccinés sont touchés par des signes digestifs et systémiques

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

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

CONCLUSION

Les agents étiologiques d'entérotoxémie sont les mêmes chez les ovins et les caprins. *Clostridium perfringens* type A est le plus fréquent en Algérie, suivi de *Clostridium perfringens* type D. Cette tendance s'inverse dans les autres pays. Les raisons de cette discordance sont encore inconnues, mais le typage et le dénombrement précoces et systématiques des Clostridies permettraient d'objectiver le rôle de chacun des toxotypes dans la pathogénie. Pour cela, des données comparatives sur la cinétique de croissance bactérienne dans l'intestin chez les petits ruminants sains et malades seraient utiles. Si effectivement, *C. perfringens* type A est le principal agent d'entérotoxémie ovine et caprine en France, la politique vaccinale devrait être revue dans la plupart des élevages. De plus, *Clostridium sordellii* a une incidence importante chez les petits ruminants, mais son rôle dans la pathogénie est sérieusement discuté. Des études approfondies révéleraient l'utilité de vacciner contre ce germe.

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

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

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

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

Aucune recherche à ce jour n'a permis de déterminer les facteurs de sensibilité aux toxines clostridiennes permettant d'expliquer la variabilité entre les formes ovine et caprine.

Grâce à des outils diagnostiques très performants et aux connaissances actuelles en termes de génétique, les hypothèses sont aujourd'hui plus facilement explorables.