

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE IBN KHALDOUN DE TIARET

INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES



**Mémoire de fin d'études
en vue de l'obtention du diplôme de docteur vétérinaire**

THEME :

**Prévalence de l'entérotoxémie chez les ovins
- Etude bibliographique**

Présenté par :

**Mlle: Belkhiati Fatima Zohra
Mlle: Ghozal Karima**

Encadre par :

Dr : Akermi Amar

Année universitaire : 2016 – 2017

REMERCIEMENT

D'abord je profite de cette occasion pour adresser mes sincères remerciements à *M. BENALLOU BOUABDELLAH* directeur de l'institut des science vétérinaire de Tiaret ,*M. Benia Ahmed Redha* chef de département , pour leur gestion sage et les bonnes conditions d'études qu'ils nous ont procurées.

Je ne trouve pas les mots pour exprimer ma gratitude envers *M. Akermi Amar*, mon encadreur. Ses conseils et ses encouragements ont permis à ce travail d'aboutir. Ses capacités scientifiques et ses compétences étaient mon grand support. Faire mon projet sous sa direction était pour moi un grand honneur et un immense bonheur.

Enfin je ne peux pas oublier les gens de l'institut de science vétérinaire où était le début de mon chemin scientifique. Je les remercie sincèrement pour m'avoir donner ce niveau de docteur vétérinaire, ce niveau qui a constitué mon véritable appui et mon support durant ce travail et il le fera le long du mon chemin professionnel...

Dédicaces

Ce travail modeste est dédié :

À mon père ; Hadj Ali

À ma chère mère ; Nacera

À tous mes proches de la famille Belkhiati, et plus particulièrement, mes sœurs Ikram, Amina, Chaima et mon frère Mohamed tout à son nom et sans oublier les familles Ismaili, et Ghozal .

À tous mes chers amis et mes collègues de l'institut de sciences de vétérinaires ; Et à tous ce qui ont enseignés moi au long de ma vie scolaire.

Belkhiati fatima zohra

Dédicaces

*J'offre toute ma réussite à mima **haniya** qui était une brave femme, simple, généreuse, honnête, courageuse ; sympathique ; tu étais ma mère avant d'être ma tante ; tu m'as aimée du fond du cœur ; tu m'as bien éduquée ; tu m'as appris d'être forte et courageuse, tu étais présente à mes cotés dans tous les moments. J'aurais aimé que tu sois présente dans ce jour, mais le destin a voulu autre chose. Que dieu te bénisse pour tout ce que tu as fait pour moi ; repose en paix chère mère. A dieu nous appartenons et à lui nous retournerons Tu resteras gravé dans mon cœur à jamais, tu es mon idole.*

Sans l'aide du grand dieu. Je n'aurais jamais pus finir ce travail ;c'est pourquoi je remercie le tout puissant de m'avoir donné le courage la patience et la force d'achever ce travail.

*A mon professeur et mon promoteur **Dr. Amar Akarmi** qui ma donné l'envie d'aimer et approfondir mes connaissance en pathologies des ruminants, avec toute la reconnaissance que je lui dois pour ses conseils précieux, son aide dans le cheminement de cette étude et sa disponibilité dont il a fait preuve ainsi que le suivi dans toute ma période d'étude, mes sincère remerciement.*

A mes parents qui ont attendu avec patience les fruits de leurs éducation, qui mon indiqué la bonne voie. Merci pour m'avoir supporté dans mes discisions. Merci pour votre amour, votre confiance et votre soutient.

*A ma chère sœur **Alia** ;à mes chères frères : **NourEddine** ; **Mohamed** et **Sofien** pour les moments de complicité, de folie, de joie partagés ensembles.*

*A mes belles **Iman**, **Mona** ,**Alia** et **Salima** pour les moments d'amitié partagés et les moments de joie et de bonheur.*

A tous mes collègues que j'ai rencontrés durant les années passées a l'université.

GHOZAL KARIMA

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
I. ETIOPATHOGENIE DE L'ENTEROTOXEMIE CHEZ LES OVINS ET LES CAPRINS	2
I .1. Les bactéries	2
I .1.1. Les agents responsables d'enterotoxemie chez les petits ruminants ...	2
I .1.2. Habitat	2
I .1.3. Morphologie	3
I .1.4. Culture	4
I .1.5. Mode d'action	5
I .1.6. Sensibilite et resistance aux antibiotiques et detergents	5
I .1.7. Classification de Clostridium perfringens	7
I .2. Les toxines	12
I .2.1. Les toxines de Clostridium perfringens	12
I .2.2. Les toxines de Clostridium sordellii	18
I .2.3. Les toxines de Clostridium septicum	19
II. EPIDEMIOLOGIE	20
II.1. Epidémiologie descriptive	20
II.1.1. Espèces sensibles et répartition géographique	20
II.1.2. Importance et prévalence en Algérie	21
II.1.3. Forme épidémiologique	24
II.1.4. Catégories d'animaux atteints	24
II.2. Epidémiologie analytique	25
II.2.1. Sources	25
II.2.2. Contamination	27
II.2.3. Facteurs de risque	28
II.2.4. Sensibilité spécifique	30
1. ETUDE CLINIQUE	33
II.3. Symptômes	33
II.3.1. Enterotoxemie a C. perfringens type A	33
II.3.2. Enterotoxemie a C. perfringens type B	34
II.3.3. Enterotoxemie a C. perfringens type C	34
II.3.4. Enterotoxemie a C. perfringens type D	35
II.3.5. Enterotoxemie a C. perfringens E	37
II.3.6. Enterotoxemie a C. sordellii	37
II.3.7. Enterotoxemie a C. septicum	38
II.4. Lésions	38
II.4.1. Etude macroscopique	39
II.4.2. Etude histologique	47
II.5. Diagnostic	49
II.5.1. Prélèvements	49
II.5.2. Méthodes diagnostiques	51

2. MOYENS DE LUTTE	59
I I.6. Traitement	59
I I.6.1. Mesures hygiéniques	59
I I.6.2. Mesures médicales	59
I I.7. Prophylaxie	60
I I.7.1. Maitrise des facteurs de risque	60
I I.7.2. Vaccination	61
CONCLUSION	71
RESUME	72

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1 : C. PERFRINGENS, FORME VEGETATIVE [C. MANTECA CEVA SA].....	3
FIGURE 2 : CARTE GENETIQUE DU CHROMOSOME DE C. PERFRINGENS CPN50 [ROOD 1998].....	9
FIGURE 3 : PROPORTION DES DIFFERENTS TOXINOTYPES DE CLOSTRIDIUM DANS LES ENTEROTOXEMIES CAPRINES EN FRANCE [CHARTIER ET BROQUA 1995].....	22
FIGURE 4 : PROPORTION DES DIFFERENTS TOXINOTYPES DE CLOSTRIDIUM PERFRINGENS DANS LES ENTEROTOXEMIES OVINES [MANTECA ET AL. 2005].....	23
FIGURE 5 : ENTEROTOXEMIE OVINE. JEJUNUM HEMORRAGIQUE [C. MANTECA CEVA SA].....	40
FIGURE 6 : ENTEROTOXEMIE OVINE. ENTERITE HEMORRAGIQUE [C. MANTECA CEVA SA].....	41
FIGURE 7 : ENTEROTOXEMIE OVINE. CONGESTION HEPATIQUE [C. MANTECA CEVA SA].....	41
FIGURE 8 : ENTEROTOXEMIE OVINE. REINS PULPEUX [C. MANTECA CEVA SA].....	42
FIGURE 9 : ENTEROTOXEMIE CAPRINE. ENTERITE ET COLITE HEMORRAGIQUE [AFSSA NIORT].....	43
FIGURE 10 : ENTEROTOXEMIE CAPRINE. CAILLETTE HEMORRAGIQUE [AFSSA NIORT].....	43
FIGURE 11 : ENTEROTOXEMIE CAPRINE. INFLAMMATION DU CAECUM [AFSSA NIORT].....	44
FIGURE 12 : SCHEMA MONTRANT LA DISTRIBUTION DES LESIONS DANS L'ENCEPHALE D'AGNEAUX AYANT SUBIT UNE INJECTION INTRA-DUODENALE DE CLOSTRIDIUM PERFRINGENS TYPE D. [UZAL ET AL.2004]	49

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU I : CARACTERES CULTURAUX DE C. PERFRINGENS, C. SORDELLII ET C. SEPTICUM [LATOUR 2004 ; SHOENIAN 2005]	5
TABLEAU II : PRINCIPALES MALADIES DUES A C. PERFRINGENS CHEZ LES OVINS ET LES CAPRINS : CLASSIFICATION TOXINGENIQUE [MANTECA ET DAUBE 1994 ; UZAL 2004].	7
TABLEAU III: DEFINITION DES NOUVELLES CATEGORIES DE C. PERFRINGENS [DAUBE 1992].	8
TABLEAU IV : GENE, MODE D’ACTION ET ACTIVITE BIOLOGIQUE DES TOXINES DE C. PERFRINGENS [LATOUR 2004 ; ROOD 1998].	13
TABLEAU V : MALADIES ASSOCIEES AUX DIVERS TOXINOTYPES (CLASSIFICATION TRADITIONNELLE) DE C. PERFRINGENS, ESPECES CIBLES, REPARTITION [DAUBE.1992].	20
TABLEAU VI : FREQUENCE RELATIVE DES AGENTS ETIOLOGIQUES D’ENTEROTOXEMIE EN FONCTION DE L’AGE CHEZ LES OVINS ET LES CAPRINS [POPOFF 1989 ET 1994]	24
TABLEAU VII : ETUDE CLINIQUE DE L’ENTEROTOXEMIE TYPE D CHEZ LES OVINS ET LES CAPRINS. FREQUENCE RELATIVE DES SYMPTOMES DECRITS DANS LA BIBLIOGRAPHIE [UZAL 2004, VAN METRE ET AL. 2000].	37
TABLEAU VIII : GRILLE DES LESIONS NECROPSIQUES D’ENTEROTOXEMIE TYPE D [BLACK WELL ; UZAL 2004]	45
TABLEAU IX : PRESENCE ET VALEUR DIAGNOSTIQUE DE CLOSTRIDIUM DANS L’INTESTIN DES PETITS RUMINANTS [LATOUR 2004 ; SHOENIAN 2005]	52
TABLEAU X : VACCINS CONTRE LES INFECTIONS CLOSTRIDIENNES DISPONIBLES EN FRANCE POUR LES PETITS RUMINANTS EN 2005 [PETIT 2005].	65
TABLEAU XI : QUELQUES VACCINS VETERINAIRES CONTRE L’ENTEROTOXEMIE DISPONIBLES DANS LE MONDE [SHOENIAN 2005]	66

LEXIQUE DES ABREVIATIONS

°C: degré Celsius
ADN: Acide Désoxyribonucléique
ADP: Adénostyle di-phosphate
AFSSA: Agence Française de Sécurité Sanitaire et des Aliments
AMM: Autorisation de Mise sur le Marche
AMPc: Adénostyle Mono-Phosphate cyclique
ARNr: Acide Ribonucléique ribosomique
C. : *Clostridium*
cf.: confère
Cl⁻: ion chlorure
DL: Dose Létale
ELISA: Enzyme Linked Immunosorbant Assay
H₂S: Sulfure de dihydrogène
HT: Toxine Hémorragique
K⁺: ion potassium
Kb : kilo base
KDa: kilo Dalton
LT: Toxine Létale
MBEC: Mouse Brain endothélial Cellule
MDCK: Madin Darby Canine Kidney
mg/dL: milligramme par decilitre
ml: millilitre
mm: millimetre
MNT: Mouse Neutralisation Test
MS: Matière Seche
Na⁺: ion sodium
PCR: Polymérase Chain Réaction
pH: potentiel Hydrogène
UFC: Unité Formant Colonie
UI: Unite Internationale

Notes et références :

- Ann1. Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA). Division de la sante des animaux et de l'elevage. Section des produits biologiques veterinaires. *Site de l'agence canadienne d'inspection des aliments*. Mise a jour le 24 novembre 2005. [<http://www.inspection.gc.ca/francais/vetbio/>] (consulte le 28 novembre 2005).
- Ann2. Faculte de Medecine Pitie-Salpetriere. *Site de l'université de médecine Paris VI*. Mise a jour le 13 octobre 2005. [<http://www.chups.jussieu.fr>] (consulte le 20 juillet 2005)
- Ann3. Universite Claude Bernard Lyon 1. *Site de l'université Claude Bernard à Lyon 1*. Mise a jour en 2005. [<http://www.univ-lyon1.fr>] (consulte le 15 mai 2005).
- Bernath S, Fabian K, Kadar I, Szita G, Barna T. (2004) Optimum time interval between the first vaccination and the booster of sheep for *Clostridium perfringens* type D. *Acta Vet Brno*. 73:473-5
- Blackwell TE, Butler DG. (1992). Clinical signs, treatment, and *post mortem* lesions in dairy goats with enterotoxaemia: 13 cases (1979-1982). *J Am Vet Med Assoc*. 200(2):214-7
- Blackwell TE, Butler DG, Bell JA. (1983) Enterotoxaemia in the goat: the humoral response and local tissue reaction following vaccination with two different bacterin-toxoid. *Can J Comp Med*;47:127-132
- Blackwell TE, Butler DG, Prescott JF, Wilcock BP. (1991). Differences in signs and lesions in sheep and goat with enterotoxaemia by intraduodenal infusion of *Clostridium* type D. *Am J Vet Res.*; 52(7):1147-52
- Chartier C. (2002) Enterotoxemie et vaccination chez les caprins. *Point Vet*. (n°special pathologie ovine et caprine). 140-4
- Chartier C, Broqua C. (1995) Maladies nutritionnelles et metaboliques de la chevre adulte. *Point Vet*. 27(numero special):107-118
- Chen Z, Zandonatti M, Jakubowski D, Fox HS. (1998) Brain capillary endothelial cells express MBEC1, a protein that is related to the clostridium perfringens enterotoxin receptor. *L. Investigation*. 78(3):353-362
- Clark S. (2003) Sudden death in periparturient sheep associated with *Clostridium sordellii*. *Vet Rec* 153: 340
- Dart F, *La coprologie sur le web*. Mises a jour janvier 2005 [<http://coproweb.free.fr>] (consulte le 15 mai 2005)
- Daube G. (1992) *Clostridium perfringens* et pathologies digestives. *Ann Med Vet*. 136:5-30
- Dray T. (2004) *Clostridium perfringens* type A and β 2 toxin associated with enterotoxaemia in a 5-week-old goat. *Can Vet J* 45: 251-253
- Duchesnes C, Granum PE, Menozzi MG. Diagnosis and typing *In: Pathology and Ecology of the genus Clostridium in human, animal and foodstuffs: identification, epidemiology and prophylaxis*. [en-ligne] EU fifth framework programme, 2001. Mise à jour le 30 septembre 2005. [<http://www.genusclostridium.net>] (consulte le 15 novembre 2005).
- Ferrer LM, Garcia de Jalon J, De las Heras M. (2002) *Atlas des pathologies ovines*. Ed. Servet. 311p.
- Garcia. S, Araiza M, Gomez M, Heredia N. (2002) Inhibition of growth, enterotoxine production, and spore formation of *Clostridium perfringens* by extracts of medicinal plants. *J. Food Prot.*, 65(10):1667-9
- Green DS, Green MJ, Hillyer MH, Morgan KL. (1987) Injection site reactions and antibody responses in sheep and goat after the use of multivalent clostridial vaccines. *Vet Rec*. 120:435-439

- Greenham LW, Harber C, Lewis E, Scullion FT. (1987) *Clostridium perfringens* in pelleted feed. Vet Rec. 120:557
- Latour P. (2004) Les enterotoxémies chez les bovins: bilan bibliographique et contribution à l'amélioration du diagnostic nécropsique et bactériologique. These Med Vet. Ecole Nationale Veterinaire de Lyon, Lyon.
- Leonhart L. (2004) Les enterotoxémies: actualités bibliographiques. These Med Vet. Ecole Nationale Veterinaire de Lyon, Lyon.
- Lewis CJ, Naylor RD. (1998) Sudden death in sheep associated with *Clostridium sordellii*. Vet Rec. 142:417-421
- Lucas F, Popoff M, Corthier G. (1991) Les enterotoxines bactériennes: structure, mode d'action. Ann Rech Vet. 22:147-162
- Mainil J, Duchesnes C, Pelkonen S, Dubreuil L, Menozzi MG. Identification, typing and antibiotic resistance of the genus *Clostridium*. In: *Pathology and Ecology of the genus Clostridium in human, animal and foodstuffs: identification, epidemiology and prophylaxis*. [en-ligne] EU fifth framework programme, 2001. Mise à jour le 30 septembre 2005. [<http://www.genusclostridium.net>] (consulte le 15 novembre 2005).
- Manteca C. (2003) Etude étiologique de l'enterotoxémie bovine. These Med Vet. Université de Liège, Liège. 115p.
- Manteca C. (18 octobre 2005) *Prévalence de C. perfringens type A* [courrier électronique à Trevennec K.] carlene_trevennec@hotmail.com
- Manteca C, Daube G. (1994) Etude de l'enterotoxémie bovine en Belgique. Ann Med Vet, 138:155-164
- Manteca C, Daube G, Jauniaux T, *et al.* (2002) A role of the *Clostridium perfringens* β 2 toxin in enterotoxaemia? Vet Microbiol. 86:191-202
- Manteca C, Daube G., Paliargues T. *et al.* (2005) Epidemiological survey of ovine enterotoxaemia in Europe. In *Proceeding of the 6th international sheep veterinary congress* Hersonnissos, Grèce. 17-21 juin 2005.
- Manteca C, Jauniau T, Ginter A, Kaeckenbeeck A, Mainil JG. (2003) Première évaluation des rôles pathogènes des toxines α et β 2 lors d'enterotoxémie bovine. In. *Compte rendu des Journées nationales GTV*. Nantes 14-17 mai 2003; p.745
- Mariano EFP, Uzal FA. (2005) Morphologic and physiologic changes induced by *Clostridium perfringens* type A α toxin in the intestine of sheep. Am J Vet Res. 66:251-5
- Miserez R, Frey J, Buogo C, Capaul S, Tontis A, Burnens A, Nicolet J. (1998) Detection of α - and ϵ -toxigenic *Clostridium perfringens* type D in sheep and goat using DNA amplification technique (PCR). Lett Appl Microbiol. 26(5):382-6
- Mitchell G. (1999) Differential diagnosis of diarrhoea/illthrift in goat at grass. In practice. 139-143
- Niilo L. (1988) *Clostridium perfringens* type C enterotoxaemia. Can Vet J. 29:658-664
- Petit S. (2005) *Dictionnaire des Médicaments Vétérinaires (DMV)*, 13ème édition. Point vétérinaire. 1765p.
- Philippeau C, Goncalves S, Julliard V. (2003) Diagnostic bactériologique des enterotoxémies. Point Vet. 237 : 12-13
- Phukan A, Dutta GN, Daube G, Das BC. (1997) Characterization of *Clostridium perfringens* isolates from goats. Indian Vet J. 74: 11, 915-8
- Popoff M. (1979) Enterotoxémie à *Clostridium perfringens* chez les ovins et glucosurie. Bull Soc Vet Prat de France, 63: 6, 431-448
- Popoff M. (1987) Purification and characterization of *Clostridium sordellii* lethal toxin and cross-reactivity with *Clostridium difficile* cytotoxin. Infect Immun. 55:35-43
- Popoff M. (1989) Les enterotoxémies. Revue Med. Vet. 140(6):479-491
- Popoff M. (1994) Les affections à *Clostridium* chez les ovins. Bulletin des GTV. 3 : 43-49

- Rood JI. (1998) Virulence genes of *Clostridium perfringens*. *Annu Rev Microbiol.* 52: 333-60
- Sargisson N. (2004) Differential diagnosis of diarrhoea in lambs. In practice. 20-27
- Sauvart D, Meschy F, Mertens D. (1999) Les composants de l'acidose ruminale et les effets acidogènes des rations. *INRA Prod Anim.* 12:49-60
- SCIL: Southampton Center for Independent Living, Strasbourg. *Reflovet®* Communication personnelle, 2005.
- Shoenian S, Vaccines (biologics) used in the sheep and goat industry. *Site de Maryland small ruminant page*. Mise à jour le 11 novembre 2005. [<http://www.sheepandgoat.com/articles/vaccinestable.html>] (consulte le 15 novembre 2005)
- Sipos W, Fischer L, Schindler M, Schmoll F. (2003) Genotyping of *Clostridium perfringens* isolated from domestic and exotic ruminants and swine. *J. Vet. Med. B.* 50:360-2
- Smith MC, Shermann DM. (2002) *Goat medicine*. Philadelphia: Saunders, 10: 298-302
- Songer JG. (1998) Clostridial diseases of small ruminants. *Vet. Res.* 29:219-232
- Srinivasan EVR, Muzamil SR, Anbu KA, Meignanasundar VS, Krishnamurthy A, Rajendran MP. (2001) Studies on the immunologic efficacy of a toxoid vaccine against enterotoxemia in sheep. *Indian Vet J.* July 78:579-582
- Uzal FA. (2004) Diagnosis of *Clostridium perfringens* intestinal infections in sheep and goats. *Anaerobe* 10. 135-143
- Uzal FA, Boder AV, Kelly WR, Nielsen K. (1998) Variability of serum antibody responses of goat kids to a commercial *Clostridium perfringens* epsilon toxoid vaccine. *Vet Rec.* 143:472-4
- Uzal FA, Glastonbury JRW, Kelly WR, Thomas R. (1997) Caprine enterotoxaemia associated with cerebral microangiopathy. *Vet. Rec.* 141:224-6
- Uzal FA, Kelly WR. (1996) Enterotoxaemia in goats. *Vet Res Commun.* 20(6):481-492.
- Uzal FA, Kelly1 WR. (1998) Experimental *Clostridium perfringens* type D enterotoxaemia in goats. *Vet Pathol.* 35:132-140
- Uzal FA, Kelly2 WR. (1998) Protection of goats against experimental enterotoxaemia by vaccination with *Clostridium perfringens* type D epsilon toxoid. *Vet Rec.* 142(26):722-5
- Uzal FA, Kelly WR, Morris WE, Bermudez J, Baison M. (2004) The pathology of peracute experimental *Clostridium perfringens* type D enterotoxemia in sheep. *J Vet Diagn Invest* 16:403-411
- Uzal FA, Kelly WR, Thomas R, Hornitzky M, Galea F. (2003) Comparison of four techniques for the detection of *Clostridium perfringens* type D epsilon toxin in intestinal contents and other body fluids of sheep and goats. *J Vet Diagn Invest.* 15(2):94-9
- Uzal FA, Pasini FV, Robles CA, Elizondo A. (1994) An outbreak of enterotoxaemia caused by *Clostridium perfringens* type D in goats in Patagonia. *Vet Rec.* 135:279-280
- Uzal FA, Rolfe BE, Smith NJ, Thomas AC, Kelly WR.1 (1999) Resistance of ovine, caprine and bovine endothelial cells to *Clostridium perfringens* type D epsilon toxin in vitro. *Vet Res Commun.* 23:275-284
- Uzal FA, Wong JP, Kelly WR, Priest J.2 (1999) Antibody response in goats vaccinated with liposome-adjuvanted *Clostridium perfringens* type D epsilon toxoid. *Vet Res Commun.* 23:143-149
- Van Metre DC, Tyler JW, Stehmann SM. (2000) Diagnosis of enteric disease in small ruminants. *Vet Clin North Am Food Anim pract.* 16(1):87-115
- Walker PD. (1992) Bacterial vaccines: old and new, veterinary and medical. *Vaccine.* 10(14):977-987

INTRODUCTION

L'enterotoxemie est un processus pathologique aigu, tres souvent fatal, atteignant de nombreuses especes animales et caracterise par la diffusion dans le sang de toxines secretees dans le tractus intestinal. *Clostridium* est considere comme le principal agent etiological de cette maladie, en particulier *Clostridium perfringens*. D'autres bacteries telle que *Escherichia coli* verotoxique sont responsables d'enterotoxemie de maniere tres anecdotique.

Le syndrome debute a la faveur d'une rupture de l'equilibre de la flore intestinale. La proliferation des clostridies qui en resulte, s'accompagne d'un accroissement de la concentration en toxines dans l'intestin. La degradation et l'augmentation de la permeabilite de la paroi digestive par ces toxines se solde par une diarrhee profuse et la toxi-infection du sujet.

L'enterotoxemie chez les petits ruminants constitue l'une des principales entites pathologiques en eleavage intensif, tant sur le plan medical qu'economique. Etant donnee la faible valeur individuelle des animaux et le sombre pronostic des enterotoxemies, la maladie est abordee a l'echelle du troupeau.

L'objectif initial de ce travail consistait a mettre au point une methode simple pour diagnostiquer l'enterotoxemie caprine. L'etude devait permettre d'identifier les principaux agents pathogenes *via* le typage par la detection de toxines et la methode PCR ainsi que le denombrement bacterien. Une autopsie de chaque cas visait egalement a repertorier les lesions et a etablir une grille lesionnelle d'aide au diagnostic. Les experiences devaient avoir lieu au laboratoire de l'AFSSA site de Niort, sur des animaux suspects d'enterotoxemie amenes par les eleveurs eux-memes. Cependant, la baisse reguliere du nombre d'autopsies effectuees a l'AFSSA ces dernieres annees et peut etre la peur de decouvrir des cas de tremblante chez les chevres, ont dissuade les eleveurs d'apporter leurs animaux morts pour les tests. Faute de cas, l'experience a ete remplacee par un sujet emergeant des divers articles lus au cours des recherches bibliographiques : la comparaison des enterotoxemies ovines et caprines.

Malgre les apparences et certaines pratiques, les ovins et les caprins sont deux especes tres differentes, dont l'eleavage et la maitrise sanitaire ne peuvent etre adaptes de l'une a l'autre. Alors que l'etiopathogenie et les facteurs de risque d'enterotoxemie sont identiques, l'etude epidemiologique, clinique et necropsique revele de fortes variations d'une espece a l'autre. La difference de receptivite et de sensibilite est directement incriminee et joue un role important dans la prophylaxie *via* la vaccination.

Dans un premier temps, nous aborderons l'etiologie de l'enterotoxemie par une etude bacteriologique. Ensuite, nous etudierons l'epidemiologie de la maladie, avec les facteurs de risque. Puis nous verrons comment diagnostiquer cette affection grace a l'etude des symptomes et des lesions et grace aux examens de laboratoire. Enfin nous detaillerons les moyens de lutte, en particulier la vaccination. Chacune de ces parties mettra en evidence les ressemblances et les differences entre les ovins et les caprins.

I. ETIOPATHOGENIE DE L'ENTEROTOXEMIE CHEZ LES OVINS ET LES CAPRINS :

I.1. LES BACTERIES :

I.1.1. LES AGENTS RESPONSABLES D'ENTEROTOXEMIE CHEZ LES PETITS RUMINANTS :

Les enterotoxemies des ruminants sont principalement dues aux bacteries du genre *Clostridium*. D'autres agents etiologicals peuvent etre responsables de cette maladie tel que *Escherichia coli*, mais leur prevalence est tellement faible qu'il me semble inutile de les detailler. *Clostridium* est un bacille GRAM positif, anaerobie, tellurique et capable de sporuler.

Chez les petits ruminants, on connait 3 principaux agents d'enterotoxemie.

Clostridium perfringens :

Responsable d'enterotoxemies, de toxi-infection alimentaires et de gangrenes gazeuses post traumatiques

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

Clostridium sordellii :

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

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

Clostridium septicum :

Responsable d'oedeme malin chez de nombreuses especes et d'un syndrome enterotoxemique associant des lesions de la caillette chez les petits ruminants [Songer 1998].

Les principaux agents etiologicals d'enterotoxemie sont les memes pour les ovins et les caprins : *C. perfringens*, *C. sordellii* et *C. septicum*.

I.1.2.HABITAT :

C. perfringens presente un habitat mixte : l'habitat anaerobie est le plus repandu dans l'environnement. La plupart du temps, *C. perfringens* type A est retrouve dans les sols, l'air, l'eau ou les poussieres mais c'est aussi un commensal des flores intestinales, vaginales ou des voies aeriennes superieures de l'Homme et des animaux. Il est occasionnellement rencontre

dans le rumen, en faible nombre. Il est detruit dans l'abomasum. Dans les conditions normales, il peut etre present dans l'intestin grele, le caecum et le colon.

Capable de tolerer une semi-anaerobiose, il contamine sous forme sporulee certains aliments (viande, lait, fruits, legumes) et sa presence dans les eaux est un critere de contamination fecale [Ann.3 2005, Latour 2004].

Les autres types de *C. perfringens* ont essentiellement un habitat intestinal (ruminants). *C. sordellii* et *C. septicum* resident également dans le sol et l'intestin de l'Homme et des animaux [Latour 2004]. Cependant, certains auteurs soulignent la difficulté d'isoler *C. sordellii* dans la plupart des cas de clostridiose ou de mort subite. Cette rareté suggère qu'il n'est pas commensal du tube digestif [Shoenian 2005].

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).

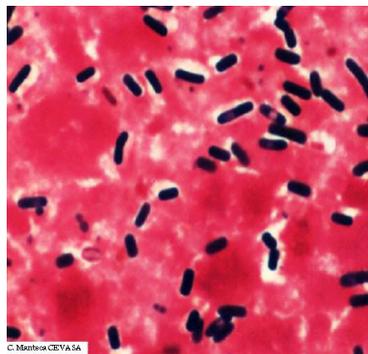


Figure 1 : *C. perfringens*, forme végétative [C. Manteca CEVA SA].

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 [Ann.3 2005, Ferrer *et al.* 2002, Latour 2004].

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

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 [Ann.3 2005].

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

I.1.4.CULTURE :

I.1.4.1 Culture sur milieu de type gelose au sang :

Le mode de culture le plus couramment utilise est l'anaerobiose stricte sur gelose au sang ou gelose ColumbiaR avec 5% de sang de mouton, pendant 24 a 48 heures a la temperature optimale de croissance 37°C.

Les colonies de *C. perfringens* sont plates, brillantes et irregulieres. Placees 1 heure a 4°C, elles creent une double hemolyse: une hemolyse complete au contact de la colonie et un halo trouble de l'hemolyse incomplete [Ann.3 2005]. La double hemolyse est typique de *C. perfringens* [Phukan *et al.* 1997].

Les colonies de *C. sordellii* mesurent 2-3 mm de diametre apres 48h de croissance. Elles sont gris clair, avec une surface convexe et irreguliere. Le pourtour presente souvent une zone d'hemolyse [Shoenian 2005].

Les colonies de *C. septicum* sont cotonneuses et presentent une zone d'hemolyse.

I.1.4.2 Milieux speciaux :

Le milieu TSNR contient des antibiotiques (neomycine polymyxine) et du citrate de fer permettant la mise en evidence du pouvoir sulfito-reducteur [Ann.3 2005]. *C. perfringens* a une production abondante d'H₂S a partir des acides amines soufres. L'effet gazogene est observe pour toutes souches placees dans un milieu complexe. Ce critere est utilise pour denommer *C. perfringens* dans les sols, eaux ou feces par mesure de production de gaz [Latour 2004].

I.1.4.3 Caracteres cultureux de base (Tableau I) :

Le diagnostic differentiel de *C. perfringens* est aise grace a la fermentation des glucides. La fermentation du lactose y est un caractere constant, absent chez *C. sordellii*.

	Clostridium perfringens	Clostridium sordellii	Clostridium septicum
Gelatinase	-	+	+
Lecithinase	+	+	-
Glucose	+	+	+
Indole	-	+	-
Lipase	-	-	-
Lactose	+	-	+

Tableau I : Caracteres cultureux de *C. perfringens*, *C. sordellii* et *C. septicum* (Latour ; Shoenian,2004).

I.1.5. MODE D'ACTION :

I.1.5.1 Lyse des tissus :

Clostridium secrete une exotoxine proteique, une phospholipase (lecithinase) qui desorganise les membranes cellulaires. Cette toxine antigenique a aussi une action hemolytique.

C. perfringens secrete aussi une hyaluronidase, une collagenase et une desoxyribonuclease dont l'action cellulaire favorise l'extension de l'infection. Ce pool enzymatique participe à la destruction des tissus, notamment de la muqueuse intestinale [Ann.2 2005]. Mais aucun facteur d'adhesion n'a ete mis en evidence [Leonhart 2004].

I.1.5.2 Augmentation de la permeabilite intestinale :

Certaines souches de *Clostridium*, dont celles responsables d'enterotoxemie, secretent une enterotoxine, thermolabile [Ann.2 2005]. Liberee dans la lumiere intestinale, elle agit en augmentant la permeabilite intestinale, favorisant ainsi l'entree des bacteries et des toxines dans l'organisme.

I.1.5.3 Intoxination :

Suite aux destructions cellulaires et a l'augmentation de la permeabilite de la paroi intestinale, les toxines clostridiennes (puis les bacteries) sont a meme de penetrer dans l'organisme. Elles vont agir a un site cellulaire precis, different pour chaque bacterie toxinogene [Dart 2005].

Les toxines etant les principaux facteurs de virulence, leur concentration est etroitement correlee a l'intensite du syndrome enterotoxemique et a la severite des lesions. La quantite de toxine liberee est proportionnelle a la multiplication bacterienne [Manteca 2003].

I.1.6.SENSIBILITE ET RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES ET DETERGENTS :

I.1.6.1 Sensibilite et resistance aux antibiotiques [Mainil et al. 2005] :

Il existe des resistances aux antibiotiques chez les animaux, specialement pour les macrolides, lincosamide, les tetracyclines et le chloramphenicol. Les connaissances sur le mecanisme et l'aspect genetique de ces resistances sont aujourd'hui assez completes.

LES BETA LACTAMINES :

Les penicillines sont plus efficaces sur *Clostridium perfringens* que les cephalosporines. Les resistances aux penicillines sont rares et la production de β -lactamase n'a pas ete demontree. Si une resistance aux penicillines apparait, elle traduit une baisse d'affinite de la molecule avec le recepteur PBP1 (Penicillin Binding Protein 1). Certaines souches sont resistantes aux cephalosporines de seconde et de troisieme generation.

RESISTANCE AUX MACROLIDES, LINCOSAMIDES :

Le gene de resistance a l'erythromycine est actuellement denomme *ermB* (Erythromycine Resistance Methylase). Il permet la synthese d'une methylase qui provoque la dimethylation de l'ARNr 23S. Ce gene est situe 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*.

RESISTANCE AUX TETRACYCLINES :

Plusieurs gènes de résistance aux tetracyclines 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*.

RESISTANCE AU CHLORAMPHENICOL :

La résistance au chloramphenicol n'est pas fréquente. Elle est due au gène nommé *catP*, qui code une acétyl-transférase. Un autre gène peut être incriminé : *catQ*. Il est encore plus rare que *catP*.

SENSIBILITE AUX AUTRES ANTIBIOTIQUES :

C. perfringens est sensible à la plupart des autres antibiotiques, parmi lesquels on compte fluoroquinolones, métronidazole, 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 tetracyclines, au chloramphenicol et aux antibiotiques du groupe érythromycine 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 [Smith et Shermann 2002].

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, beta 1, epsilon et iota. On utilise donc une classification phénotypique. Cinq types de *C. perfringens* sont ainsi définis dans la classification de Wildson, datant de 1933 et encore souvent utilisée aujourd'hui (cf. Tableau II). Les 5 profils sont eux-mêmes subdivisés selon les types de production de toxines dites mineures [Manteca et Daube 1994]. Les toxinotypes A, B et C se divisent respectivement en 2, 2 et 5 sous-types. Mais la classification en sous-types a une utilité restreinte. Alors que

certaines sous-types, ont une specificite geographique ou d'hote, leur interet diagnostique est nul, puisque les anticorps neutralisants utilises pour le diagnostic sont diriges contre les toxines majeures. Les valences mineures ne sont pas verifiees [Daube 1992].

Deux autres toxines majeures existent, l'enterotoxine et la toxine β_2 , chez *C. perfringens* et ne sont donc pas utilisees pour le typage [Manteca et Daube 1994, Latour 2004, Uzal 2004]. Outre l'importance taxonomique de la classification phenotypique, elle permet de comprendre la pathogenie en associant chaque entite pathologique aux toxinotypes correspondants.

<i>C. perfringens</i> type	Toxines Majeures produites				Ovins	Caprins
	A	β	ϵ	ι		
A (1)	++	-	-	-	Maladie de l'agneau jaune	Enterotoxemie
B (1 et 2)	+	++	+	-	Dysenterie de l'agneau	Enterite hemorragique
C (1 et 2)	+	++	-	-	Enterite hemorragique (jeune) Struck (adulte)	Enterite hemorragique
D	+	-	++	-	Maladie du rein pulpeux	
E	+	-	-	++	Enterotoxemie	Enterotoxemie

Tableau II : Principales maladies dues a *C. perfringens* chez les ovins et les caprins : classification toxingenique [Manteca et Daube 1994 ; Uzal 2004]

++ Principale toxine produite

+ Toxine secondaire, en general produite en quantite moindre

- Toxine non produite

(1) Sous type

I.1.7.2 C lassification genotypique [Rood 1998] :

Des souches de meme toxinotype pourraient avoir des genomes differents, avec la mobilite probable de genes de la virulence, notamment des genes plasmidiques [Daube 1992]. La classification phenotypique, jugee trop restreinte, est progressivement abandonnee au profit d'une classification genotypique (Tableau III).

TOXINOTYPE	GENOTYPES ASSOCIES
A	<i>plc</i> <i>plc, cpe</i> <i>plc, cpb2</i> <i>plc, cpb2, cpe</i>
B	<i>plc, cpb1, etx</i> <i>plc, cpb1, etx, cpe</i>
	<i>plc, cpb1</i> <i>plc, cpb2</i>

C	<i>plc, cpb1, cpe</i> <i>plc, cpb2, cpe</i> <i>plc, cpb1, cpb2, cpe</i>
D	<i>plc, etx</i> <i>plc, etx, cpe</i>
E	<i>plc, iap, ibp</i> <i>plc, iap, ibp, cpe</i> <i>plc, iap</i>

Tableau III : Toxinotypes et genotypes associes de *Clostridium perfringens* [Latour 2004].

ETUDE GENETIQUE :

Chromosome bacterien :

C. perfringens est la premiere bacterie GRAM positif chez qui la carte genetique a pu etre dresse (figure 2). La souche CPN50, qui sert de modele, possede un chromosome circulaire de 3,6 Mb ou 24 genes ou regions genetiques ont ete decodes. Le site d'origine de la replication est nomme

oriC. A proximite se trouve la plupart des genes de toxines, soit 250 kb. Les genes toxiques situes sur le chromosome bacterien sont : *plc* le gene de la toxine α , *pfoA* le gene de la toxine θ , *colA* le gene de la toxine κ , *nagH* gene de la toxine μ , *nanH* et *nanI* genes de la sialidase ... Le gene de l'enterotoxine, *cpe*, est variablement situe sur le chromosome ou un plasmide. Tous ces loci constituent paradoxalement la region la plus instable, pour des raisons non connues a ce jour. Au contraire, les genes de regulation d'expression des genes toxiques avoisinent le site de terminaison de la replication, a l'oppose de *oriC*.

Les chromosomes de chacun des 5 toxinotypes ont une structure proche. La capacite de produire certaines toxines resulte de l'acquisition ou la perte de genes de toxines specifiques, situes sur des elements extra chromosomiques

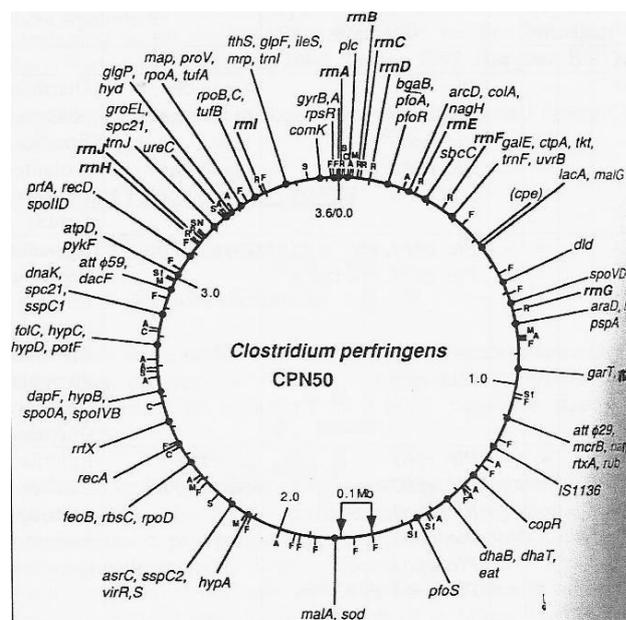


Figure 2: Carte genetique du chromosome de *C. perfringens* CPN50 [Rood 1998]
Gene *plc* : toxine α

La comparaison des sequences en nucleotides du gene *plc* de chaque toxinotype, revele une identite phylogenetique. La toxine α comporte le meme enchainement en acides amines chez tous les types de *C. perfringens*, avec peu de variances. La difference entre le toxinotype A et les autres, resulte de la regulation de l'expression de *plc* et non d'une modification de sa sequence et l'aptitude a synthetiser les toxines β , ϵ et ι .

Genes *pfoA*, *cola*, *nagH* et *lam* : toxines enzymatiques :

Le gene *pfoA* code pour la toxine θ , perfringolysine O, dont l'action est hemolytique. Une etude sur *Escherichia coli* montre qu'une deletion sur le gene *pfoR* reduit l'activite hemolytique. Le gene *pfoA* semble donc regule par *pfoR*. Cette hypothese reste a confirmer pour *C. perfringens*. La perfringolysine module l'activite hemolytique du bacille, mais son role dans la virulence n'est pas essentiel.

Le gene *cola* est separe de *pfoA* par 2 loci. Sa transcription donne une pro-collagenase, qui ne devient active qu'une fois liberee dans le milieu. Le role de la toxine κ dans la virulence reste à prouver.

De meme, les genes *nagH* et *lam* codent respectivement pour les enzymes β -N-Acetyl glucosaminidase soit la toxine μ et une caseinase, soit la toxine λ . Leur role dans la virulence demeure inconnu.

Genes *nanH* et *nanI* : sialidase :

Comme de nombreux pathogenes, *C. perfringens* produit une sialidase ou une neuraminidase, capables d'hydrolyser l'acide sialique, composant primordial des membranes cellulaires. Le gene *nanH* code pour une « petite sialidase », d'un poids moleculaire de 42,8kDa, qui semble provenir des toxines homologues de *C. sordellii* et de *C. septicum*. Le gene *nanI* code pour une « grande sialidase », d'un poids moleculaire de 73 kDa, dont la sequence en acides amines presente 26% de similitude avec la « petite sialidase ». Leur modalite d'action varie: ces 2 enzymes agissent a des temperatures optimales propre sur des substrats different

Plasmides :

Les plasmides sont des elements extra-chromosomiques, instables et capables d'etre transfere d'une bacterie a une autre, permettant ainsi un echange d'information genetique, l'acquisition de resistance ou l'apparition de nouveaux caracteres.

Gene *c pbl* : toxine $\beta 1$:

Ce locus est situe sur un grand plasmide. De nombreuses ressemblances ont ete identifiees avec le gene de la toxine α de *Staphylococcus aureus*. La toxine $\beta 1$ est constituee de 309 acides amines. Elle est tres instable dans le contenu digestif car sensible a la trypsine intestinale.

Gene *c pb2* : toxine $\beta 2$:

Ce locus fut decouvert recemment. Il est situe sur un grand plasmide. Longtemps confondu avec la toxine $\beta 1$, il s'est en fait avere que ces 2 toxines avaient des sequences tres differentes.

Gene *etx* : toxine ϵ :

Il est situe sur un grand plasmide. Le gene *etx* code pour une chaine polypeptidique de 283 acides amines, qui apres clivage par la trypsine digestive, donne la toxine ϵ . D'importantes similitudes ont ete revelees, a hauteur de 20 et 27% de sequence identique avec les genes *mtx2* et *mtx3* chez *Bacillus sphaericus*. Cette ressemblance peut etre fortuite ou plus probablement due à une origine commune.

Genes *iap/iab* : toxine ι :

La production de la toxine ι caracterise le toxinotype E, particulierement rare. L'expression de ces genes est donc peu frequente. Par ailleurs, il s'agit de la seule toxine, composees de 2 chaines polypeptidiques. L'expression des genes *iap* et *iab* obeit a un promoteur unique. De meme que pour les autres genes de toxines plasmidiques, une ressemblance a ete etablie avec la toxine de *Bacillus anthracis*, avec 33% de sequence identique.

Regulation de la production de toxines :

Si on met en culture croisee 2 souches mutantes, toutes 2 incapables de produire la toxine θ , on observe tout de meme une hemolyse. Il a ete prouve que le premier mutant produisait une exo proteine, qui activait la synthese de la toxine θ chez le second mutant. En effet, le premier avait subi une mutation sur la sequence meme du gene de la toxine, et le second avait subit une mutation sur le gene de la proteine activatrice. Tous 2 etaient inaptes a produire la toxine mais la culture croisee a permis une complementation fonctionnelle. Cette experience montre qu'il existe des substances activatrices et que la synthese des toxines est regulee

La regulation de l'expression des genes toxiques depend de substances activatrices et du systeme *virS/virR*. Ces genes sont chromosomiques. La proteine *virS* est enchassee dans la membrane cytoplasmique. Suite à son activation par une substance extra-cellulaire, elle subit une autophosphorylation. Une reaction en cascade demarre, *via* la proteine *virR*, qui induit la transcription de genes toxiques. Les loci sensibles a cette regulation sont *pfoA*, *nanH*, *nanI*, *colA* (et *colR* ?), *plrR*(?) qui a son tour stimule l'expression de *plc*. D'autres modalites de regulation existent, mais demeurent inconnues. [Rood 1998]

Enterotoxine :

C'est la seule toxine synthetisee en phase de sporulation. Elle est codee par le gene *cpe*, localise sur le chromosome bacterien ou sur un plasmide. Seulement 6% des isolats de *C. perfringens* possedent le gene *cpe* et produisent la toxine. Le determinisme de la transcription du gene *cpe* n'est pas connu. L'hypothese de promoteurs communs avec les genes de la sporulation semble plausible [Rood 1998].

NOUVELLE CLASSIFICATION :

Une simplification de la classification semble s'imposer au vu de l'affection decrite, meme si certains marqueurs epidemiologiques se revelent utiles pour le diagnostic de certaines souches. Cette classification ne repose plus sur le toxinotype mais sur la toxine principalement produite. On definit *C. perfringens* type A non producteur d'enterotoxine comme souche de base. Nous avons donc 5 categories de souches : type A non enterotoxinogene, celles produisant essentiellement les toxines β , ϵ , ι ou l'enterotoxine [Daube 1992].

Categorie	Facteur de virulence principal	Toxinotypes impliqués
1	Toxine α	Type A non enterotoxinogene
2	Toxine β	Type B non enterotoxinogene Type C non enterotoxinogene Type C enterotoxinogene
3	Toxine ϵ	Type D non enterotoxinogene Type D enterotoxinogene
4	Toxine ι	Type E (le gene <i>cpe</i> n'est pas exprime)
5	Enterotoxine	Type A enterotoxinogene

Tableau III: Definition des nouvelles categories de *C. perfringens* [Daube 1992].

C. perfringens est l'agent principal d'enterotoxemie chez les petits ruminants. Les ovins et les caprins sont sensibles a chacun de ses toxinotypes, avec cependant des specificites liees a l'espece et a l'age, induisant une variabilite au niveau de l'expression clinique. (cf II. Etiopathogenie et III Etude clinique). *C. sordellii* et *C. septicum* sont egalement responsables d'enterotoxemie chez les ovins et les caprins.

I.2.LES TOXINES :

I.2.1.LES TOXINES DE CLOSTRIDIUM PERFRINGENS :

C. perfringens produit 17 toxines differentes (Tableau IV), mais seulement 5 ont un role avere et determinant dans la pathogenie : les toxines α , β , ϵ , ι et l'enterotoxine [Daube 1992]. On distingue 3 principaux modes d'action des toxines majeures : la formation de pores membranaires, la destabilisation des membranes cellulaires, qui perturbent la permeabilite membranaire des cellules cible, ainsi que l'alteration du cytosquelette cellulaire. Les toxines mineures ont un role secondaire, parfois potentialisant l'action des toxines majeures. On ignore encore le role precis dans la pathogenie ou le mode d'action de certaines de ces toxines.

Toxine	Gene	Localisation	Activite biologique	Effet pathologique
α	<i>Plc</i>	chromosome	Phospholipase Clecithinase, hemolysine, necrotique, letale (destruite par la trypsine)	Augmentation de la permeabilite des endotheliums, cytolytique, hemolytique,

				leucocytyque
β 1	<i>cpb1</i>	plasmide	Necrotique, letale (destruite par la trypsine)	Necrose hemorrhagique de la muqueuse intestinale
β 2	<i>cpb2</i>	plasmide	Formation de pores ? Alteration des membranes cellulaires ? (destruite par la trypsine)	Necrose hemorrhagique de la muqueuse intestinale
ϵ	<i>Etx</i>	plasmide	Augmentation de la permeabilite capillaire, necrotique, letale (activee par la trypsine)	Oedemes, oedemes perivasculaires, necrose cerebrale et renale
ι	<i>iap/ibp</i>	plasmide	Actine specifique-ADPribosyltransferase	Necrose de la muqueuse intestinale
Enterotoxine	<i>Cpe</i>	Chromosome/ plasmide	Formation de pores membranaires, verotoxique, enterotoxique (resistante a la trypsine)	Fuite d'ions, deshydratation cellulaire, diarrhee
θ	<i>pfoA</i>	chromosome	Hemolysine	Virulence secondaire
κ	<i>colA</i>	chromosome	Collagenase, gelatinase	Virulence secondaire
λ	<i>Lam</i>	chromosome	Protease : caseinase, gelatinase	Virulence secondaire
μ	<i>nagH</i>	chromosome	Endo- β -N-acetylglucosaminidase	Virulence secondaire
Sialidase	<i>nanI, nanH</i>	chromosome	Sialidase, neuraminidase	Virulence secondaire

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

I.2.1.1 Toxine α :

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

CYTOTOXICITE :

La toxine α a une action phospholipase C. En presence d'ions calcium, elle hydrolyse la phosphatidylcholine et la sphingomyeline, deux composants importants de la membrane phospholipidique cellulaire. L'inactivation des pores membranaires conduit a une forte

perturbation des flux ioniques, creant un appel osmotique : la diminution des entrees d'ions provoque une baisse d'hydratation dans la cellule. Chez le rat, l'injection *in vitro* d'une preparation avec la toxine α sur anse colique ligaturee, provoque une secretion importante d'ions chlorure. La sortie d'ion Cl^- est due d'une part aux prostaglandines, mediatrices de l'inflammation, d'autre part aux modifications de la concentration cellulaire en ions calcium. La sortie d'eau qui s'en suit contribue a l'effet cytotoxique de la toxine. Chez les petits ruminants, aucune mesure des transports d'ions n'a ete realisee pour expliquer le mecanisme precis de cette sortie d'eau. Mais le modele du rat semble pouvoir etre rapporte a ces especes [Mariano et Uzal 2005].

ACTION DANS L'INTESTIN :

Le role de la toxine α dans la pathogenie enterique n'est pas clairement defini. L'inoculation de toxine α sur anses intestinales ligaturees d'agneaux induit une forte exsudation de liquide. Experimentalement, il a ete observe que l'augmentation de la permeabilite membranaire etait biphasique. Ceci suggere la double action de la toxine α : morphologique et physiologique. Le mecanisme reste flou, d'autant plus qu'aucune modification morphologique des enterocytes n'a ete observee a ce jour. La toxine α n'a donc pas de role majeur dans l'intestin, elle induit simplement une inflammation aigue de la paroi intestinale, avec une exsudation dans la lumiere ileale et colique, dans les 4 h qui suivent l'inoculation [Mariano et Uzal 2005].

ACTION DANS L'ORGANISME :

Une fois absorbee dans le flux sanguin, la toxine α provoque une augmentation de la permeabilite des vaisseaux sanguins. De plus, elle agit sur la membrane des hematies et provoque une hemolyse intravasculaire et l'agregation plaquettaire. Il s'en suit de nombreuses lesions organiques et un etat de choc [Mariano et Uzal 2005, Van Metre *et al.* 2000].

I.2.1.2 Toxine $\beta 1$:

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

La toxine $\beta 1$ est un polypeptide de 309 acides amines. Elle a une action cytotoxique sur les villosites des cellules epitheliales par formation de pores membranaires. Son action necrosante entraine la destruction et la desquamation de la muqueuse. L'extension des lesions est rapide atteignant les cellules des cryptes, la lamina propria puis la musculature. Les pertes cellulaires induisent des hemorragies intra-luminales. L'absorption de la toxine qui s'en suit provoque des signes systemiques. Les organes cibles sont le coeur, les vaisseaux et les ganglions lymphatiques [Leonhart 2004, Niilo 1988, Rood 1998].

Cette molecule est lysee dans l'intestin par la trypsine. Les inhibiteurs de proteases digestives ou un deficit en secretion trypsinogenique favorisent l'expression de la virulence de la toxine β [Manteca *et al.* 2005].

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

I.2.1.3 Toxine $\beta 2$:

Longtemps confondue avec la toxine $\beta 1$, la toxine $\beta 2$ a d'abord ete isolee sur des porcs presentant une enterite necro-hemorragique, et plus tard chez d'autres especes dont l'agneau et le chevreau. Malgre des similitudes biologiques, leur sequence en acides amines ne presente aucune homologie significative et elles sont differentes d'un point de vue serologique, sans reaction croisee 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 [Dray 2004, Manteca *et al.* 2002, Manteca *et al.* 2003].

Cette toxine majeure peut être associée avec la plupart des toxinotypes, mais plus principalement avec *C. perfringens* type A. Les types C et D peuvent aussi produire la toxine β_2 , mais plus rarement [Dray 2004].

Une synergie entre les toxines α et β_2 est suspectée. On considère que 60% des cas d'enterotoxémie du veau sont dus à l'action couplée de ces 2 toxines [Manteca *et al.* 2003]. Chez les petits ruminants, un cas d'enterotoxémie type A a été diagnostiqué chez un chevreau, ou certains isolats bactériens portaient le gène de la toxine β_2 , laissant présager un rôle de cette toxine dans l'enterotoxémie caprine [Dray 2004]. De même, des souches de *C. perfringens* type A contenant le gène β_2 ont été isolées chez des ovins, mais aucune étude ne permet de préciser si cette toxine était effectivement produite [Manteca *et al.* 2005].

I.2.1.4 Toxine ϵ :

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

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 16^{ème} acide aminé [Manteca *et al.* 2005].

CYTOTOXICITE :

La croissance de *Clostridium* conduit à l'accumulation de toxine ϵ dans l'intestin. À 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 à une augmentation de la perméabilité membranaire. Cette augmentation de l'AMPc explique donc l'hyperglycémie et la glucosurie observées chez les animaux malades [Popoff 1979, Manteca *et al.* 2005].

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

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 une action couplée avec d'autres toxines ou avec des

molécules présentes dans le sang, ou encore en interaction avec la paroi des vaisseaux. [Uzal *et al.* 1999] 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 enterotoxémie 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. [Uzal *et al.* 2003]

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

ACTION SUR L'ENDOTHELIUM DE L'ENCEPHALE :

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* [Uzal *et al.* 1999].

L'expérience a été reproduite, sans succès, sur des cellules endothéliales de la crosse aortique. On ne peut pourtant pas conclure qu'un tel résultat serait obtenu avec les cellules endothéliales de l'encéphale car elles sont particulières : jonctions inter cellulaires serrées, faible taux d'endocytose, déficit en collagène périvasculaire, membrane basale épaissie et association intime avec les astrocytes... Ces spécificités assurent l'efficacité de la barrière hémato-méningée à assurer l'homéostasie du milieu extra cellulaire céphalique. [Chen *et al.* 1998] À 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 enterotoxémies B et D. Elle provoque la libération d'acétylcholine au niveau des terminaisons nerveuses cholinergiques. À faible dose, elle induit la libération excessive de glutamate, d'où d'importants dommages neuronaux. [Manteca *et al.* 2005]

La toxine ϵ agirait directement sur les astrocytes en perturbant la dynamique des fluides jusqu'à la mort cellulaire [Uzal *et al.* 1999]. Il est été mis en évidence que la toxine pouvait agir directement sur les neurones chez le rat, induisant leur dégénérescence et leur nécrose.

Les lésions cérébrales alors observées n'étaient pas dues à la microangiopathie [Uzal *et al.* 2004].

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

CONSEQUENCES LÉSIONNELLES DANS L'INTESTIN ET DANS L'ORGANISME :

L'action sur les endothéliums permet une augmentation de la perméabilité vasculaire, donc la formation d'œdèmes. Il en résulte : œdème et nécrose du système nerveux responsables de troubles nerveux, œdème périvasculaire et intra lobulaire au niveau des poumons, œdème myocardique et péricardique, pétéchies sur les séreuses, lésions rénales s'accroissant après la

mort par la lyse rapide du parenchyme renal. L'action sur les hepatocytes provoque la destruction des reserves de glycogene et donc une hyperglycemie, suivie d'une glucosurie. Une action sur les macrophages est egalement decrite.

La toxine ϵ est une des plus puissantes toxines produites par *C. perfringens*. Les lesions cerebrales et vasculaires sont les plus frequentes et les plus caracteristiques.

Cette toxine quoique resistente, n'est pas retrouvee systematiquement dans le contenu intestinal : soit elle est absorbee dans l'organisme, soit elle est detruite dans l'intestin quelques heures apres la mort de l'animal. Son utilisation pour le diagnostic d'enterotoxemie s'en trouve limitee. Pour le typage d'une souche isolee, elle reste tres utile [Popoff 1979, Uzal 2004, Uzal *et al.* 2003, Uzal et Kelly1 1998].

I.2.1.5 Toxine ι :

Seul *C. perfringens* type E produit la toxine ι . Elle est constituee de 2 chaines polypeptidiques. Le composant actif a un poids moleculaire de 47,5 kDa. Il a un role ADPribosyltransferase specifique du groupement Actine. Le second composant fait le poids moleculaire de 71,5 kDa et n'a qu'un role liant.

Son activite consiste a desorganiser le cytosquelette cellulaire en inhibant la regeneration de l'actine [Rood 1998].

I.2.1.6 Toxine δ :

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

I.2.1.7 Enterotoxine :

Elle est produite par la plupart des souches en phase de sporulation du *Clostridium* dans l'intestin. Elle est constituee d'une chaine polypeptidique de 34 kDa. Sa nature biochimique la rend thermolabile : elle perd son pouvoir toxique grace un chauffage de 10 minutes à 60°C. L'enterotoxine agit sur la permeabilite membranaire aux acides amines, ions, glucose, eau... de maniere a inhiber la synthese proteique, et par consequent à diminuer la viabilite de la cellule. Son effet est donc principalement cytotoxique. Dans l'intestin, elle induit une reponse secretoire et de serieuses lesions epitheliales [Lucas *et al.* 1991]. L'injection intraveineuse d'extraits bacteriens de *C. perfringens* enterotoxinogene sporules chez des ovins induit des lesions de congestion intestinale, congestion du foie, de la rate, des poumons, des reins avec parfois de l'ascite et un hydrothorax. Cette experience n'est cependant pas suffisante pour demontrer l'implication de *C. perfringens* type A enterotoxinogene dans la maladie chez le mouton [Daube 1992].

L'enterotoxine est active sur de nombreux types cellulaires : enterocytes, hepatocytes... grace à la reconnaissance d'un recepteur proteique membranaire appele CPE-R.

Une etude revele de nombreuses ressemblances structurales entre CPE-R et un recepteur membranaire est isole chez la souris, sur culture de cellules endotheliales, par une technique d'hybridation d'ADN. Ce recepteur est appele MBEC1 (Mouse Brain Endothelial Cells) et il est present sur de nombreux endotheliums et epitheliums. Sa sequence en acides amines a 71% de similarite avec celle de « human CPE-R » et aussi de nombreux domaines hydrophobes. Or chez la souris, le recepteur MBEC1 a ete mis en evidence au niveau de nombreux organes : encephale, endotheliums arteriel et veineux, coeur, rate, rein, foie,

pancreas, mesentere, epithelium pulmonaire, trachee [Chen *et al.* 1998] ... Une voie de recherche reste à explorer pour connaître les modalités d'action de l'enterotoxine sur les organes cibles.

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

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 inactive à pH inférieur à 6,5 ou supérieur à 8,5.

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

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

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 létal de la toxine. De plus, les ponts disulfures entre les groupements thiols sont primordiaux pour l'activité biologique [Popoff 1987].

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

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

I.2.2.3 Role dans la pathogenie :

Les avis divergent quant au rôle de *C. sordellii* dans la pathogenie des enterotoxémies. Il a été isolé seul ou associé à *Fusobacterium necrophorum*, *Clostridium bifermentans* ou *Clostridium sporogenes* dans la caillette d'ovins morts d'enterotoxémie. Le rôle pathogène de ces germes anaérobies ayant été écarté, *C. sordellii* devient l'unique responsable de la mort des moutons [Lewis et Naylor 1998]. Un autre argument est en faveur de sa pathogénicité : *C. sordellii* n'a

ete identifie que chez des animaux atteints d'enterotoxemie et semble absent chez l'animal sain. Pourtant, une etude recente revele que les souches de *C. sordellii* isolees sur des bovins malades etaient negatives avec les sondes HT et LT [Manteca 2003]. Un resultat similaire a ete obtenu sur des souches prelevees sur des ovins morts d'enterotoxemie [Manteca *et al.* 2005]. Il est donc peu probable que les toxines soient produites. De plus, ces souches sont biochimiquement proches de *C. bifermentis*, souche non pathogene.

Bien que *C. sordellii* soit isole dans environ 15% des cas d'enterotoxemie ovine ou caprine, son role dans la pathogenicite est contestable.

I.2.3.LES TOXINES DE CLOSTRIDIUM SEPTICUM :

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

La toxine α agit principalement dans l'intestin. *C. septicum* synthetise une protoxine, qui, une fois fixee sur son recepteur, est activee par les proteases digestives. Les differents peptides ainsi actives migrent, se regroupent et forment un pore membranaire. Son action est letale, hemolytique et necrotique [Manteca *et al.* 2005].

La toxine β agit plutot dans l'abomasum et a une activite desoxyribonuclease. [Popoff 1994]

Clostridium perfringens produit une grande variete de toxines.

La bibliographie sur l'action des toxines clostridiennes chez les petits ruminants revele de nombreuses etudes sur la toxine ϵ et tres peu sur d'autres toxines comme la toxine α . Les scientifiques s'interrogent davantage sur l'enterotoxemie type D.

D'apres les modes d'action, les phases de la pathogenie sont identiques chez les ovins et les caprins : alteration et permeabilisation de la paroi intestinale, penetration des toxines puis des bacteries dans l'organisme et action sur les organes cibles.

On distingue une variabilite specifique au niveau de la sensibilite aux toxines. Les caprins seraient depourvus de recepteurs a la toxine ϵ fonctionnels dans l'encephale. L'absence de recepteurs sur cet organe cible expliquerait la rarete des encephalomalacies, contrairement aux ovins qui presentent tres souvent des signes nerveux.

Par ailleurs, tous les mecanismes ne sont pas encore elucides. On s'interroge sur l'action synergique des toxines α et β_2 dans l'enterotoxemie caprine type A, maladie causant des deces chez le chevreau.

II.EPIDEMIOLOGIE :

II.1.EPIDEMIOLOGIE DESCRIPTIVE :

II.1.1. ESPECES SENSIBLES ET REPARTITION GEOGRAPHIQUE :

C. perfringens est une espece bacterienne presente dans le tube digestif de toutes les especes animales et de l'Homme. Sa repartition est mondiale. Certains toxinotypes ont des specificites geographiques ou d'hote (Tableau V).

Toxinotype	Symptomatologie associee	Especes cibles	Distribution
A1	Gangrene gazeuse	Homme	Cosmopolite
	Mammite	Bovin	G-B, Japon
	Enterite necrotique	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, equins	Afrique du Sud, G-B
B2	Enterotoxemie	Ovins, caprins	Iran
C1	Struck	Ovins	Afrique du Sud, G-B, Australie
C2	Enterite necro-hemorragique	Ovins , bovins, equins	USA, G-B
C3	Enterite necro-hemorragique	Porcelet	USA, G-B, Scandinavie
C4	Enterite necro-hemorragique	Homme, volaille	Allemagne
C5	Enterite necro-hemorragique	Homme	Papouasie nouvelle Guinee
D	Enterotoxemie	Ovins, caprins , bovins	Cosmopolite
E	Enterotoxemie	Ovins , bovins	G-B, Australie

Tableau V : Maladies associees aux divers toxinotypes (classification traditionnelle) de *C. perfringens*, especes cibles, repartition [Daube 1992]

Chez les caprins, *C. perfringens* A et D sont les plus souvent incrimines lors d'enterotoxemie. Les autres types ont ete cependant signales : *C. perfringens* B en Iran et *C. perfringens* C en Angleterre et aux Etats-Unis [Chartier et Broqua 1995]. Les ovins sont sensibles a davantage de toxinotypes differents, mais les toxinotypes A et D demeurent les plus frequents [Songer 1998].

II.1.2. IMPORTANCE ET PREVALENCE EN Algerie :

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

En France, l'enterotoxemie constitue une dominante pathologique des petits ruminants, plus particulierement en elevages intensifs. Etant donne la faible valeur economique individuelle de ces animaux, les examens et les prelevements *post-mortem*, pourtant indispensables a la confirmation et a la precision du diagnostic, sont loin d'etre systematiques.

Les donnees sur les petits ruminants, en particulier sur les chevres, sont rares et souvent obtenues a partir de petits effectifs.

II.1.2.1 Chez les caprins :

L'enterotoxemie est la seconde cause de diarrhees (20% des cas) chez la chevre [Mitchell 1999]. De plus, 30% des autopsies caprines a l'AFSSA site de Niort sont des enterotoxemies.

C'est un motif de réforme non négligeable : sur un taux de réforme moyen de 27% en élevage laitier intensif, la moitié des sorties ont une cause digestive : acidose et/ou enterotoxémie (motif de réforme exact parfois non différencié). Ces valeurs sont tributaires du mode d'élevage, puisqu'en Australie où l'élevage caprin est extensif, l'enterotoxémie ne représente que 6,8% des autopsies [Chartier 2002].

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

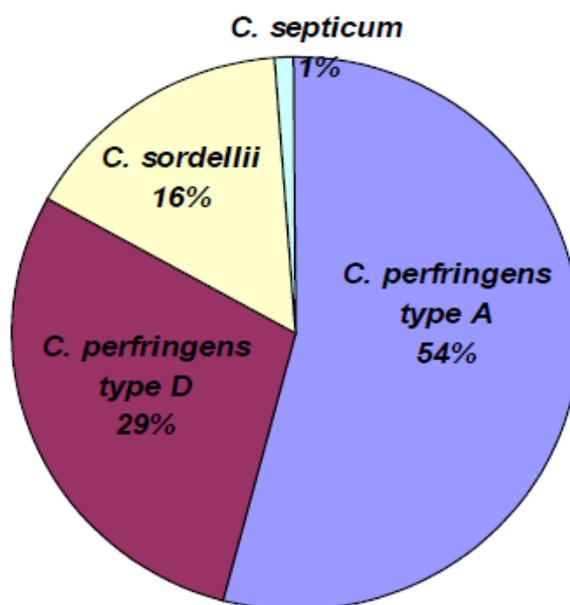


Figure 3 : Proportion des différents toxinotypes de *Clostridium* dans les enterotoxémies caprines en France [Chartier et Broqua 1995].

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

II.1.2.2 Chez les ovins :

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

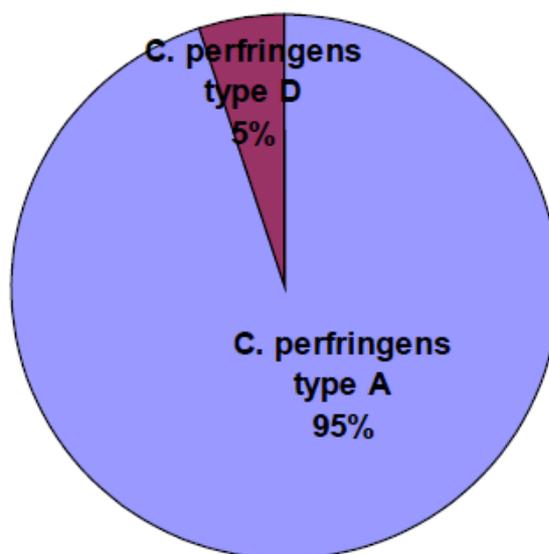


Figure 4 : Proportion des différents toxinotypes de *Clostridium perfringens* dans les enterotoxémies ovines [Manteca *et al.* 2005].

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

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

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

II.1.3. FORME EPIDEMIOLOGIQUE :

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

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

II.1.4. CATEGORIES D'ANIMAUX ATTEINTS :

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

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

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

- 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'enterotoxémie due à *C. perfringens* type A se voit 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 rares, ils n'ont été que peu observés. *C. sordellii* apparaît à tout âge [Popoff 1989 et 1994].

Les agents étiologiques majeurs d'enterotoxémie sont les mêmes chez les ovins et les caprins. En France, *C. perfringens* type A est le plus souvent incriminé, suivi de *C. perfringens* type D. *C. perfringens* type D semble plus fréquent chez les caprins. Mais les

donnees de terrain recueillies en France ne s'accordent pas avec les donnees bibliographiques internationales. Etant donne l'engouement scientifique pour *C. perfringens* type D dans les autres pays, il semblerait qu'il soit le principal agent etiological d'enterotoxemie chez les ovins et les caprins en dehors de l'Europe.

C. sordellii apparait dans 15% des cas d'enterotoxemie, mais sa virulence est discutee. Elle semble ecartee chez les ovins en France. Des etudes supplementaires sont necessaires pour preciser la pathogenicite de cette bacterie chez les caprins.

La forme epidemiologique de la maladie differe selon l'espece. L'enterotoxemie ovine touche essentiellement les agneaux a l'engrais. La forme caprine sevit plutot dans les elevages laitiers intensifs. L'age est un parametre important qui determine le principal agent etiological. La maladie se presente classiquement sous la forme de flambees epizootiques 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, ou *C. perfringens* resiste sous forme sporulee plusieurs mois voire annees, et les animaux sains ou malades, qui excretent les *clostridies* dans leurs feces.

II.2.1.1 Les sols :

Les sols souilles par les matieres fecales peuvent contenir 104 UFC/g [Duchesnes *et al.* 2005]. Cette valeur sous estime probablement la charge reelle en bacterie, car le nombre de spore est souvent superieur aux UFC.

Les *clostridies* sporules survivent de longues periodes dans les sols et l'environnement.

II.2.1.2 Le tractus digestif des animaux :

CHEZ LES ANIMAUX NOUVEAU NES :

A la naissance, le tractus digestif sterile est colonise, chez la plupart des especes animales, primitivement par *Escherichia coli*, *C. perfringens* type A et *Streptococcus*. Ces bacteries penetrent par voie orale, lors des tetees (mamelle souillee) ou du lechage d'objets. Elles constituent la flore intestinale avant d'etre remplacees par une microflore a metabolisme lactique (lactobacilles, *Bifidobacterium*). Une etude chez les jeunes veaux montre que la population de *C. perfringens* est insignifiante dans la caillette, le duodenum et le jejunum (<103 UFC/g), elle est sensiblement plus elevee dans l'ileon (104-105 UFC/g) et peut etre importante dans le caecum et les segments posterieurs (>108 UFC/g).

Par la suite, la flore intestinale croit et le nombre de germes anaerobies se stabilise entre 10¹⁰ et 10¹¹ bacteries par gramme de contenu intestinal [Popoff 1989].

CHEZ LES ANIMAUX ADULTES :

Sur 18 petits ruminants sains, *C. perfringens* et ses toxines ont pu etre mis en evidence chez 13 individus, les 5 autres etaient indemnes de clostridies. L'analyse genetique des souches de *C. perfringens* prelevees sur ces 13 ovins et caprins, revele la presence de la toxine α dans

100% des prelevements et de la toxine ϵ dans 15% des prelevements [Uzal 2004]. Une autre etude sur un effectif plus grand a l'abattoir, revele que la toxine ϵ est detectee chez 46% des ovins et des souches de *C. perfringens* type D ont ete isolees [Daube 1992].

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

ECOLOGIE DIGESTIVE :

La population digestive des clostridies commensales de l'intestin est faible, estimee a moins de 10⁴ UFC/g [Popoff 1994].

Il existe un equilibre entre les populations bacteriennes. Cet equilibre depend des interactions entre alimentation et bacteries d'une part et bacteries entre elles d'autre part. Plusieurs mecanismes assurent l'equilibre de la flore digestive : la competition pour le substrat, la chaine trophique, le pH, la production de composes toxiques, les traitements antibiotiques, le peristaltisme et les modifications de la bile [Popoff 1989].

Une rupture de l'equilibre (ou la destruction) de la flore intestinale libere des niches ecologiques. Les bacteries a cycle court en profitent davantage, car elle prolifere plus vite que les autres et colonisent le milieu. Dix minutes sont necessaires entre 2 generations de *Clostridium*. En une heure, la bacterie realise 7 cycles.

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

II.2.2. CONTAMINATION :

II.2.2.1 Contamination par *C. perfringens* :

CHEZ LE NOUVEAU NE :

La contamination orale par un *Clostridium* toxigenes dans les premieres heures de vie peut permettre une colonisation a un niveau eleve du tube digestif par celui-ci du fait de l'absence totale ou partielle des effets repressifs de la flore digestive. La bacterie se multiplie jusqu'a 10⁹ UFC/g. *C. perfringens* types B et C se rencontrent dans le cadre d'une enterotoxemie chez les animaux de moins de 3 jours [Niilo 1988, Popoff 1989].

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

CHEZ LE JEUNE ET L'ADULTE :

L'analyse genetique de souches pathogenes de *C. perfringens* type A chez des veaux malades a prouve qu'elles etaient residentes du tube digestif, et non des souches specifiques d'enterotoxemie, particulierement pathogenes et venues de l'exterieur [Manteca *et al.* 2003]. Il a ete egalement prouve que la simple ingestion de *Clostridium* ne permettait pas le developpement de la maladie car 90% de ces micro-organismes etaient detruits dans le rumen ou la caillette, et ne peuvent atteindre de duodenum [Uzal *et Kelly* 1998].

Ces 2 exemples confortent l'hypothese que le developpement de l'enterotoxemie est du a la proliferation de clostridies deja presents dans le tractus digestif et non a la contamination brutale par des germes presents dans l'environnement des animaux.

Par ailleurs il existe une contamination orale, faible et constante des animaux, par les spores de l'environnement. Cette presence de bacteries et de toxines dans l'intestin des animaux sains se traduit par une seroconversion chez le mouton et chez la chevre. Cette immunité naturelle n'empêche cependant pas les fortes pertes dues a l'enterotoxemie [Daube 1992].

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

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

Clostridium perfringens est une bacterie commensale de l'intestin, mais elle n'est pas présente chez tous les individus. Les jeunes animaux se contaminent primitivement par ingestion de bacteries lors des tetees sur des surfaces souillees par les feces 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 bacteries digestives. *C. perfringens* type A est plus frequent 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 developpement de *Clostridium* car son cycle de replication est tres court. On assiste alors a une explosion de la population clostridienne.

II.2.3.FACTEURS DE RISQUE :

Les clostridies prolifèrent dans l'intestin a la faveur d'une rupture de l'équilibre de la flore intestinale. La rapidité du cycle de ces bacteries 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 peristaltisme, une augmentation de la permeabilite intestinale et une destruction de la muqueuse. Ces alterations du tractus digestif et le ralentissement du transit favorisent la proliferation des clostridies et la penetration des toxines dans l'organisme.

Une helminthose intestinale, hepatique ou pulmonaire et une coccidiose sont des facteurs de risque frequents d'enterotoxemie. D'une maniere generale, ils potentialisent le developpement et l'action de *Clostridium* [Popoff 1989, Uzal et Kelly 1996].

ALIMENTATION :

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

Equilibre de la ration :

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

Chez le jeune :

Les agneaux et les chevreaux nourris avec de grands volumes de lait maternel ou allaités par une mère hautement productrice sont les candidats typiques à l'enterotoxémie. 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 enterotoxémie. 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 [Popoff 1979].

Une ration riche en protéine est donc un facteur de risque important. Un déséquilibre de ration peut provoquer un état de chronicité. Plusieurs cas d'enterotoxémie peuvent apparaître etales 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 occasionnées par le changement alimentaire sont des facteurs de prolifération de *Clostridium*. Un exemple courant est le passage du troupeau sur une nouvelle pâture, plus luxuriante. De même, un apport brusque et important de céréales ou de fourrage de haute qualité est une situation (accidentelle ou non) fréquemment à l'origine d'épisodes de maladie.

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

Aliments contenant des anti-trypsiniques :

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

Aliments contaminés :

Les aliments industriels ayant subi un traitement thermique insuffisant ou stockés dans de mauvaises conditions peuvent être vecteurs de *C. perfringens*. La toxine 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 enterite. Ces granules n'induisent pas systématiquement une enterite clostridienne, mais ils constituent un facteur de risque probablement sous-estimé [Greenham *et al.* 1987].

Traitements :

Des surdosages de netobimmin (HapadexR) 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'enterotoxémie. Chez les caprins, le surdosage des anthelminthiques est fréquent pour deux raisons : l'utilisation hors AMM chez les caprins, l'administration parfois volontairement de doses doubles, et le drogage en dose unique pour l'ensemble du troupeau [Uzal *et al.* 1994].

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

II.2.3.2 Climat :

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

II.2.3.3 Mode d'élevage :

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

Les facteurs de risque d'enterotoxémie sont globalement identiques pour les ovins et les caprins. Tout paramètre susceptible de provoquer un déséquilibre de la flore intestinale peut déclencher un épisode enterotoxémique. 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 épidémiologique.
--

II.2.4.SENSIBILITE SPECIFIQUE :

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

II.2.4.1 Predisposition raciale :

SENSIBILITE DIGESTIVE : LES HYPOTHESES D'HIER ETD 'AUJOURD'HUI :

L'enterotoxemie caprine se caracterise par une entero-colite parfois associee a une toxemie. Les ovins presentent au contraire peu de signes digestifs, mais des symptomes generaux et nerveux (cf. III. Etude clinique). Par ailleurs, certaines races caprines (Angora) sont particulierement vulnérables.

La variabilite d'expression clinique de la maladie chez les ovins et les caprins amene a supposer une difference de sensibilite digestive et systemique de ces deux especes vis-a-vis de *C. perfringens* et en particulier de la toxine ϵ secretee par *C. perfringens* type D. Les facteurs de sensibilite aux toxines ne sont pas encore clairement etablis. Plusieurs hypotheses sont emises mais aucune n'a ete confirmee a ce jour [Uzal et Kelly1 1998].

Sensibilite de la muqueuse digestive [Uzal et Kelly1 1998] :

Chez les ovins, les lésions digestives sont rares et concernent preferentiellement l'intestin grele. L'abrasion de la muqueuse duodenale et jejunaie permet la penetration de la toxine dans l'organisme, donc des effets systemiques. Au contraire, chez les caprins, les lésions sont situees en aval, au niveau du caecum et du colon.

On pose alors l'hypothese que si l'intestin grele des chevres etait plus resistant aux effets des toxines, alors le risque d'intoxication sanguine diminuerait par defaut penetration des toxines dans l'organisme. Les effets systemiques seraient moindres. En revanche, les toxines resteraient concentrees dans le tractus intestinal, ce qui augmenterait l'exposition de la muqueuse des segments distaux. La paroi du gros intestin etant de surcroit plus sensible, subirait alors d'importantes lésions de colite et de typhlite. Des experimentations ont été menees pour etudier les effets de la toxine ϵ chez les ovins et les caprins, et de la toxine α chez les ovins sur les differentes portions du tractus digestif [Mariano et Uzal 2005]. Les resultats n'ont pas mis en evidence une difference de sensibilite au niveau de la muqueuse intestinale quel que soit le segment et quelle soit l'espece etudies.

Aucune etude a ce jour n'a permis de confirmer cette hypothese, mais elle semble tres plausible. L'identification de recepteurs toxiques sur les cellules epitheliales de l'intestin grele ou la mise en evidence de facteurs d'activation des toxines seraient utiles pour preciser cette piste.

Duree du transit digestif [Uzal et Kelly1 1998] :

Chez la chevre adulte, le bol alimentaire sejourne 3 heures dans l'intestin grele et 18 heure dans le colon. Le transit digestif est plus rapide chez les ovins, notamment au niveau du gros intestin. La rapidite de proliferation des clostridies dans le colon et une longue exposition a l'action des toxines pourraient expliquer l'ampleur des lésions coliques chez les caprins.

Une experience infirme cette hypothese : un chevreau developpe une colite hemorragique et necrotique moins de 5 heures apres inoculation intra-duodenale de *C. perfringens* type D. Par ailleurs, la ralentissement du peristaltisme chez le mouton sous l'effet d'opium et *Belladonna* ne permet pas d'obtenir des lésions coliques similaires a celle des caprins. La gravite des symptomes ne dependrait donc pas de la vitesse de transit dans les differentes portions du tractus digestif.

Action des enzymes digestives sur les toxines :

Une autre hypothese propose que les toxines sont actives par des substances presentes dans le colon des chevres. En effet, *C. perfringens* type D secrete une prototoxine qui necessite le clivage de la 49 eme acide amine pour etre active, mais cette reaction est catalysee par la trypsine pancreatique et enterique au niveau du duodenum. La toxine ϵ est alors activee dans l'intestin grele et non dans le colon.

Cette supposition ne peut donc pas expliquer l'inconstance des lesions digestives chez les ovins et la gravite des lesions coliques chez les caprins [Uzal et Kelly1 1998].

Immunité acquise naturellement :

Une infection subclinique permettrait l'absorption de toxine ϵ a dose infime mais suffisante pour stimuler le systeme immunitaire. Des animaux sains et sans antecedent d'enterotoxemie clinique ni de vaccination peuvent alors presenter des anticorps seriques antitoxine ϵ . Dans certains cas, ce titre d'anticorps serait suffisant pour proteger d'une infection (0,1 UI /mL) [Uzal *et al.* 2004].

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

SENSIBILITE DES CELLULES CEPHALIQUES [UZAL ET AL. 1 1999] :

La toxine ϵ a un tropisme eleve pour les cellules endotheliales cephaliques ovines. La degenerescence et la mort rapide de ces cellules ont ete mises en evidence *in vivo*. La toxine ϵ provoquerait la necrose de l'endothelium vasculaire cerebral, aboutissant à une augmentation de permeabilite des parois vasculaires et donc a la formation d'oedemes. Chez les ovins, les signes nerveux dus a l'oedeme cerebral dominant le tableau clinique. Mais chez les caprins, les troubles neurologiques sont beaucoup moins frequents et les convulsions peuvent etre attribuees a l'hypoxie generee par l'oedeme pulmonaire. Le role de la toxine ϵ sur les cellules endotheliales et sur l'encephale chez les caprins n'est pas etabli.

L'hypothese admise est qu'il existe un recepteur a la toxine ϵ sur les cellules endotheliales vasculaires cerebrales ou les cellules nerveuses de l'encephale chez les ovins mais pas chez les caprins. L'etude comparative entre cellules endotheliales (prelevees sur l'aorte) ovines et caprines revele tout d'abord qu'aucune d'entre elle n'est alteree par la toxine ϵ , meme a forte concentration. La viabilite est estimee à 90%. Au contraire, les cellules MDCK sont detruites progressivement par le meme traitement. L'ajout de serum neutralisant antitoxine ϵ permet la survie des cellules MDCK. L'existence d'un recepteur a la toxine ϵ est prouvee pour les cellules MDCK. Alors qu'elles pouvaient servir de modele applicable aux cellules de l'encephale de mouton, l'experience montre que les cellules endotheliales etudiees sont depourvues de recepteur a toxine ϵ tant chez les ovins que chez les caprins.

L'hypothese n'a pas ete totalement rejete car l'etude etait menee sur des cellules prelevees sur l'aorte et non sur des cellules endotheliales de l'encephale, qui presentent de nombreuses particularites par rapport aux cellules endotheliales systemiques. Le doute persiste quant a la presence de recepteurs specifiques a la toxine ϵ sur les cellules endotheliales de la barriere hemato-meningee. L'etude demeure d'autant plus difficile que la toxine ϵ seule reste inactive sur les cellules *in vitro*. L'absence d'elements du serum ou d'interaction avec la paroi vasculaire peut etre aussi determinante quant a l'echec de l'experience.

II.2.4.2 Age :

L'enterotoxémie de types B et C atteint surtout les nouveau-nés dans leurs premiers jours de vie. La toxine β_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 β_1 [Van Metre *et al.* 2000]. Les jeunes issus d'une mère vaccinée pourraient être protégés. Mais l'insuffisance colostrale ou les portées nombreuses sont des facteurs de risque non négligeables [Dray 2004]. Chez les animaux adultes, les épisodes d'enterotoxémie sont plutôt ponctuels et sont souvent provoqués par un passage brutal d'une ration pauvre en protéines à une ration plus riche [Niilo 1988, Daube 1992].

La plupart des études menées pour tenter de comprendre la variabilité d'expression clinique de l'enterotoxémie chez les ovins et les caprins portent sur la toxine ϵ , donc sur l'enterotoxémie type D. La prédominance des lésions digestives dans l'enterotoxémie caprine n'est pas encore expliquée. Mais l'hypothèse la plus plausible porte sur une relative résistance de la muqueuse de l'intestin grêle aux effets de la toxine ϵ , empêchant son entrée dans l'organisme et s'accumulant dans les parties caecale et colique. Les chèvres présentent donc des lésions digestives de typhlite et de colite alors que les ovins présentent plutôt des symptômes systémiques. La prédominance des signes nerveux chez les ovins n'est pas expliquée non plus. Les recherches portent essentiellement sur le récepteur de la toxine ϵ au niveau des cellules endothéliales cérébrales. Mais les modalités de reconnaissance entre la toxine ϵ et son récepteur ainsi que l'éventuelle absence de ce récepteur chez les caprins sont 2 questions qui restent en suspens. Le jeune âge est un facteur de sensibilité aux effets de la toxine β_1 . Un pool enzymatique immature dépourvu de trypsine favorise le développement d'enterotoxémies 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).

ETUDE CLINIQUE :

Chez les ovins, les enterotoxémies 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'enterotoxémie chez les petits ruminants. Le type 5, *C. perfringens* type A enterotoxinogène 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.* 1.2.1.7 Enterotoxine) [Daube 1992, Songer 1998].

II.3. SYMPTOMES :

II.3.1. ENTEROTOXÉMIE À *C. PERFRINGENS* TYPE A :

Enterotoxémie catégorie 1 [Popoff 1989].

Synonyme : maladie de l'agneau jaune

D'après les données de terrain sur la prévalence de *C. perfringens* type A en France et en Europe, l'enterotoxémie type A est la plus fréquente. Elle concerne les ovins et les caprins de tous âges [Chartier 2002, Manteca *et al.* 2005]. En dehors de celles portant sur « la maladie

de l'agneau jaune », les recherches et les publications sur cette maladie sont quasi inexistantes.

En effet, les scientifiques canadiens, suisses, australiens... étudient davantage l'enterotoxémie type D, dont la prévalence semble supérieure dans leur pays [Dray 2004, Miserez *et al.* 1998, Uzal *et al.* 2004]. Il semblerait qu'aucune description de la maladie chez la chèvre adulte n'ait été publiée à ce jour.

Le tableau clinique de la « maladie de l'agneau jaune » est dominé par un syndrome hémolytique 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'enterotoxémie, la diarrhée n'est pas fréquente. La mort survient en moyenne 12 heures après l'apparition des symptômes. Le diagnostic différentiel inclut les maladies ictériques de l'agneau : leptospirose, maladie hépato-biliaire, intoxication. On peut y ajouter également une autre clostridiose, qui sevit davantage chez les bovins : l'hémoglobinurie bacillaire [Van Metre *et al.* 2000].

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

II.3.2. ENTEROTOXÉMIE À *C. PERFRINGENS* TYPE B :

Enterotoxémie catégorie 2 [Popoff 1989].

Synonyme : dysenterie de l'agneau.

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

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

II.3.3. ENTEROTOXÉMIE À *C. PERFRINGENS* TYPE C :

Enterotoxémie catégorie 2 [Popoff 1989].

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

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

porc est l'espece la plus sensible [Niilo 1988, Popoff 1989]. Bien que d'autres types de *C. perfringens* soient des hotes normaux de l'intestin, le type C ne predomine la flore intestinale que pendant ou apres un episode clinique.

Les animaux atteints sont d'abord apathiques et deprimes. Des diarrhees blanchatres puis foncees car hemorragiques apparaissent. Chez l'agneau, la maladie ressemble a une enterotoxemie de type B, avec des signes nerveux en phase terminale, temoignant de la penetration de la toxine dans l'organisme. On observe couramment une ataxie et parfois une rigidite musculaire et un opisthotonos [Niilo 1988, Popoff 1989].

La mise en evidence de la meningite, de la septicemie et de l'hypoglycemie est indispensable pour etablir le diagnostic differentiel dans les cas ou les symptomes digestifs sont frustres [Van Metre *et al.* 2000].

Classiquement, la maladie dure quelques jours et la mortalite est importante apres une phase comateuse entrecoupee de convulsions. En cas de diarrhee profuse, la mort survient en quelques heures. Parfois le deroulement peut etre si aigu que l'animal meurt avant de presenter les signes de diarrhee.

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

Quelques cas anecdotiques ont ete diagnostiques chez des jeunes ovins adultes entre 6 et 24 mois dans les pays anglo-saxons. La maladie est alors appelee « struck disease », qui signifie « bloque ». Le tableau clinique ressemble a celui de l'enterotoxemie de type D : mortalite brutale, abattement profond, convulsions, coma et mort [Popoff 1989 et 1994].

II.3.4. ENTEROTOXEMIE À C. PERFRINGENS TYPE D :

Enterotoxemie categorie 3 [Popoff 1989].

Synonyme : maladie du rein pulpeux.

Cette affection se caracterise par la mort subite d'un ou plusieurs individus. Elle concerne aussi bien les ovins que les caprins, de tout age. En periode neonatale de l'agneau, l'enterotoxemie de type C est plus frequente (*cf.* Tableau VII).

Les signes cliniques sont variables d'une espece à l'autre. Cette difference est probablement due a une sensibilite specifique de chaque espece. Les reelles causes de cette variabilite sont encore peu connues [Van Metre *et al.* 2000] (*cf.* II.2.4 Sensibilite specifique).

II.3.4.1 Enterotoxemie de type D des ovins :

Les symptomes nerveux dominant le tableau clinique : ataxie precoce, diminution des reflexes, puis lethargie, decubitus lateral, pedalage, convulsions et opisthotonos en fin d'evolution. Le reflexe pupillaire est en general conserve, mais il y a disparition du clignement a la menace, se qui caracterise une cecite. Une hyperesthesie et un nystagmus peuvent etre observes de maniere inconstante. La dyspnee est un symptome recurrent et precoce. La diarrhee reste rare, inconstante et d'intensite variable. Certains auteurs distinguent la forme nerveuse, dominee par une ataxie et une hyperexcitabilite, de la forme comateuse [Van Metre *et al.* 2000, Uzal 2004].

L'injection intra-duodenale de *C. perfringens* type D sur des agneaux de 12 semaines provoque chez 100% des cas : lethargie, somnolence, decubitus lateral puis pedalage

precedant la mort. Les selles sont parfois ramollies, mais ce signe est inconstant [Blackwell *et al.* 1991].

L'enterotoxemie ovine doit etre differenciee d'autres causes de mort subite avec troubles du systeme nerveux : polioencephalomalacie, intoxication par les plantes (Colchique, Grande Cigue, If, Oenanthe Safranee, Rhododendron... [Centre National d'Informations Toxicologiques Veterinaires]) toxemie de gestation, hypocalcemie, hypomagnesemie, hypoglycemie, traumatisme craniien, meningite, indigestion de sel ou privation d'eau ; et avec affection gastro-intestinale : parasitisme, intoxication, acidose ruminale, salmonellose, enterite virale.

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

II.3.4.2 Enterotoxemie de type D des caprins :

Le tableau clinique est marque par des signes digestifs aigus : diarrhee et douleurs abdominales. On distingue 3 formes d'evolution de la maladie.

FORME SURAIGUE :

Une hyperthermie a 40,5°C marque souvent le debut de la maladie. Les animaux presentent de fortes douleurs abdominales se traduisant par une distension abdominale, des coliques et des belements plaintifs. La diarrhee est tres liquide, mucoide, avec des caillots de sang, des debris de muqueuse et de la fibrine. En fin d'evolution l'animal est couche, en etat de choc severe, parfois en opisthotonos et presente une tachypnee, une salivation intense et des convulsions. La mort survient moins de 24 heures apres l'apparition des symptomes [Chartier 2002 ; Uzal et Kelly 1996 ; Van Metre *et al.* 2000].

FORME AIGUE :

C'est la forme d'enterotoxemie la plus frequente chez l'adulte, meme *a priori* bien vaccine [Chartier 2002]. Les symptomes sont identiques a la forme suraigue mais la maladie evolue sur 2 ou 4 jours. La diarrhee fibrino-hemorragique domine toujours le tableau clinique. Des complications consecutives aux pertes liquidiennes peuvent apparaitre : acidose metabolique et deshydratation intense. Un traitement precoce peut alors etre mis en place. L'administration de serum antitoxine ϵ (*cf.* V.2.3. Serotherapie) aide d'une part a la guerison et d'autre part a confirmer le diagnostic, si l'animal repond favorablement a ce traitement [Uzal 2004, Van Metre *et al.* 2000].

L'infusion intra-duodenale de *C. perfringens* type D chez des chevreaux ages de 6 semaines, induit une distension abdominale et des diarrhees dans 50% des cas, un decubitus, lethargie et un coma dans 50% des cas sans autre signe clinique. [Blackwell *et al.* 1991]

Le diagnostic differentiel 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 etre differenciee des autres causes de diarrhees neonatales, de septicemie et de l'enterotoxemie de type C [Van Metre *et al.* 2000, Uzal 2004]. Les examens complementaires necessaires sont d'abord la coprologie pour des recherches bacteriologiques ou la mise en evidence des parasites ou de leurs oeufs. Des tests de resistance aux antiparasitaires peuvent etre mis en oeuvre si l'animal avait recu prealablement

un traitement anthelminthique. Une prise de sang en vue d'effectuer une serologie, peut être également nécessaire si une paratuberculose est suspectée. Un examen biochimique et hématologique sont aussi recommandés (parasitisme) [Mitchell 1999].

FORME CHRONIQUE :

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

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, éléments plaintifs	++	-
Symptômes nerveux		
➤ Ataxie	-	+
➤ Lethargie, coma, decubitus latéral	+	++
➤ Opisthotonos		
➤ Pedalage en fin d'évolution	-/+	++
	+	++

Tableau VII : Etude clinique de l'enterotoxémie 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].

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

II.3.5. ENTEROTOXÉMIE À *C. PERFRINGENS* E :

Enterotoxémie catégorie 4 [Popoff 1989].

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

II.3.6. ENTEROTOXEMIE A C. SORDELLII :

C. sordellii atteint les ovins et les caprins de tout age, les agneaux sont plus frequemment touches [Popoff 1989]. Cependant il est rarement isole, et peu de cas sont decrits. Par ailleurs, sa pathogenicite est contestee car les souches isolees chez des animaux enterotoxemiques ne semblent pas etre virulentes (cf. I.2.2.3. Role dans la pathogenie).

Il serait responsable de mort subite. Les signes cliniques rapportes sont principalement des signes digestifs d'enterite et d'abomasite, et des signes de toxemie.

Le diagnostic differentiel chez le nouveau-ne est surtout a etablir avec la septicemie a *Manheimia haemolytica*.

Chez les animaux plus ages, l'affection doit etre distinguee d'une salmonellose a *Salmonella* Thyphimurium, d'une listeriose a *Listeria monocytogenes*, et d'autres clostridioses [Popoff 1994, Songer 1998].

II.3.7. ENTEROTOXEMIE A C. SEPTICUM :

Synonyme : Braxy, Bradsot, oedeme malin

Cette affection est rare et principalement decrite dans les pays anglo-saxons. Elle s'observe essentiellement chez les ovins entre 6 et 18 mois, mais peut egalement atteindre les caprins.

Les saisons de predilection sont l'automne et l'hiver, car les animaux sont parfois contrains d'ingerer de l'herbe gelee.

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

L'enterotoxemie 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'enterotoxemie ovine presente une plus forte variabilite clinique, qui depend de l'agent etiologique en cause: syndrome hemolytique dans le cas de la maladie de l'agneau jaune, simple enterite foudroyante dans le cas d'une infection a *C. perfringens* type C ou troubles nerveux dans le cas d'une enterotoxemie de type D. Au contraire, la forme caprine se manifeste principalement par des signes digestifs, quel que soit l'agent etiologique ou l'age de l'animal atteint.

L'enterotoxemie de type D est la plus decrite. Deux categories de symptomes dominant le tableau clinique. Les symptomes digestifs (diarree hemorragique, distension abdominale, douleurs) sont presents a la fois chez les ovins et les caprins avec une plus grande frequence. Chez les chevres, qui parfois ne manifestent aucun autre symptome. Les symptomes nerveux (ataxie, pedalage, opisthotonos, coma) sont egalement observes dans les 2 especes mais dominant le tableau clinique de l'enterotoxemie ovine. Dans l'espece caprine, on considere que les quelques signes nerveux observes sont dus a l'anoxie cerebrale. Par ailleurs, les caprins peuvent developper une forme chronique, tandis que les ovins sont touches exclusivement par des formes aigues.

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.4.1.1 Enterotoxémie de type A, maladie de l'agneau jaune :

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

L'enterotoxémie 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 externes et le rectum contient des fèces moulees. Un épanchement séro-hémorragique (500mL) remplit la cavité abdominale. Les anses intestinales sont congestionnées, et la partie proximale semble moins lésée que la partie distale. Les nœuds lymphatiques mésentériques sont hypertrophiés [Dray 2004].

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

II.4.1.2 Enterotoxémie 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 enterotoxémies [Popoff 1994]. Ces lésions d'entérite hémorragique se rencontrent chez les ovins et les caprins [Songer 1998].

II.4.1.3 Enterotoxémie 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 jejunum 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 masqué, révèle ensuite la présence de sang, de nombreux débris de muqueuse et des placards de fibrine.

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

II.4.1.4 Enterotoxemie de type D (Tableau VIII) :

FORME OVINE [BLACKWELL ; UZAL 2004] :

La carcasse est gonflée si l'autopsie n'est pas immédiate. L'état d'embonpoint est bon, la carcasse présente souvent des réserves adipeuses importantes. La carcasse est marquée par une congestion généralisée. Des pétéchies et des ecchymoses recouvrent les séreuses. Les cavités de l'organisme sont remplies d'un liquide d'épanchement séreux ou séro-hémorragique, parfois gélatineux à cause de la fibrine. L'épanchement péricardique est un signe indicateur d'enterotoxémie. Il est de couleur jaune paille et coagule à l'air libre.

Les organes thoraciques et abdominaux sont congestionnés :

Cœur :

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

Poumon :

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

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 jejunum est le segment le plus lésé (figures 5 et 6). On y observe une enterite hémorragique et le contenu est sanguinolent.



Figure 5 : Enterotoxémie ovine. Jejunum hémorragique [C. Manteca CEVA SA].



Figure 6 : Enterotoxémie ovine. Enterite hémorragique [C. Manteca CEVA SA].

➤ **Foie :**

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



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

➤ **Rein :**

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

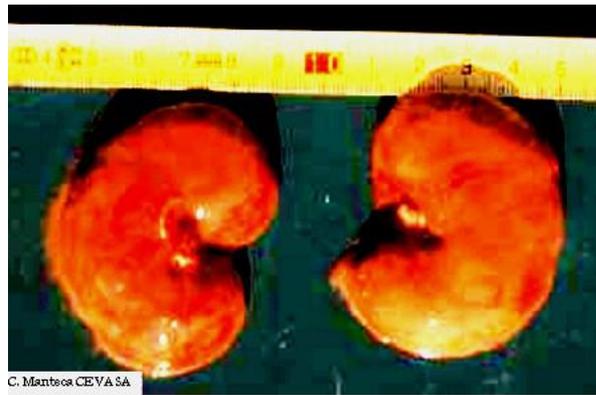


Figure 8 : Enterotoxemie ovine. Reins pulpeux [C. Manteca CEVA SA].

Ce parametre est tres significatif d'enterotoxemie type D chez les ovins et constitue une aide diagnostique precieuse. Deux bemols nuancent cette interpretation : les animaux morts depuis plusieurs heures sont deja fortement autolyses, il s'agit de ne pas confondre le rein pulpeux avec une autolyse normale ; ce critere n'est pas pathognomonique.

➤ **Encephale :**

La plupart des lesions cerebrales ne sont pas visibles macroscopiquement. Un oedeme et des plages de necrose symetriques et bilaterales sont eventuellement visibles.

FORME CAPRINE [UZAL 2004, UZAL ET AL. 2004, UZAL ET KELLY 1 1998] :

L'animal presente egalement un bon etat corporel sauf en cas de forme chronique, ou l'animal est amaigri. La carcasse revele parfois une absence totale de lesions, ou des lesions localisees uniquement au gros intestin.

➤ **Tractus digestif :**

Les lesions digestives sont predominantes (figures 9, 10 et 11). La caillette et l'intestin grele sont rarement atteints. S'ils le sont la muqueuse est congestionnee et hemorragique et la lumiere intestinale est encombrée de fibrine. Le tableau necropsique est domine par une colite et une typhlite fibrino-hemorragiques, accompagnees d'un oedeme du mesentere adjacent.

La sereuse est fortement oedematiee, congestionnee et hyperhemiee. Des portions de la muqueuse sont necrosees ou ulcerees et recouvertes de pseudo-membranes blanches. La lumiere du tractus digestif contient des debris de muqueuse, du sang et de la fibrine.



Figure 9 : Enterotoxemie caprine. Enterite et colite hemorrhagique [AFSSA Niort].

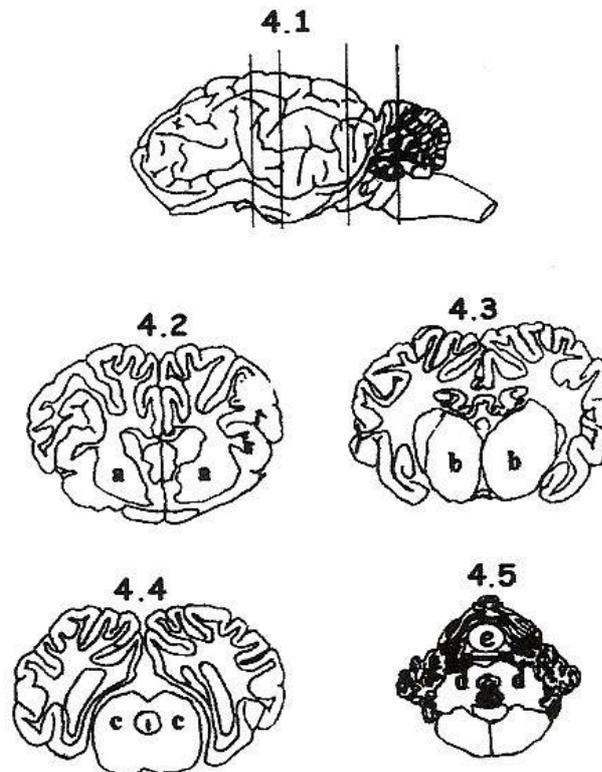


FIGURE 10 : ENTEROTOXEMIE CAPRINE. CAILLETTE HEMORRAGIQUE [AFSSA NIORT].



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

➤ **Encephale :**

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 œdématisés. L'œdème 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'enterotoxémie 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.

Lesions decrites dans la bibliographie	Frequence chez les Caprins	Frequence chez les Ovins
Etat corporel : Bon, presence de reserves adipeuses	-/+ /+++	++
Sereuses : Petechies, congestion	+	++
THORAX		
Cavite thoracique : Epanchement sereux ou sero-hemorragique	-/+	++
Coeur : Epanchement pericardique Petechies et hemorragie du myocarde et endocarde	-/+	+
Poumon : OEdeme severe	++	++
ABDOMEN		
Cavite abdominale : Epanchement sereux a sero-hemorragique	-/+ /+++	++
Foie : Hypertrophie, oedeme	-/+	+
Rate : Hypertrophie, oedeme	-/+	+
Noeuds lymphatiques : Hypertrophie, oedeme	-/+	+
Intestin grele : Ileite, muqueuse hemorragique, lumiere intestinale remplie de fibrine	-/+ /+++	+
Caecum : Typhlite	+ /+++	-
Colon : Colite fibrino-hemorragique : muqueuse hemorragique, presence de pseudo membranes blanches, debris de muqueuses et de fibrine dans la lumiere colique	++ /++++	-
Rein : Pulpeux : fortement autolyse, couleur foncee et consistance gelatineuse	- /+	+ /+++
Urine : Presence de glucose	- /+	+ /+++

Tableau VIII : Grille des lesions necropsiques d'enterotoxemie type D [Blackwell ; Uzal 2004]

- +++ Tres frequent
- ++ Frequent
- + Possible
- Absent ou non decrit

II.4.1.5 Enterotoxemie a *C. sordellii* [Lewis et Naylor 1998] :

Le tableau necropsique de l'enterotoxemie a *C. sordellii* est varie, surtout chez les adultes. La bibliographie ne detaille pas d'autopsie realisee sur l'espece caprine.

➤ **Agneaux de 3-10 semaines :**

Un oedeme sous cutane peut etre observe. La cavite abdominale subit une dilatation moderee, les organes visceraux et les muscles sont colores du rose pale voire blanc au rouge vif (congestion severe). Les noeuds lymphatiques abdominaux sont hypertrophies et parfois hemorragiques. Les vaisseaux sanguins sont congestionnes. Aucun epanchement n'est pourtant observe. L'abomasum est l'organe le plus touche : il est dilate et deplace distalement au processus xiphoide. La sereuse est gris clair, et presente des lesions d'oedeme ou d'emphyseme. La muqueuse est fortement congestionnee, surtout au niveau des replis parietaux.

Les reins presentent quelques signes d'autolyse.

La cavite thoracique, l'oesophage et la bouche sont intacts

➤ **Agneaux de 4-6 mois :**

A cet age, les lesions liees a la toxemie predominant : congestion et hemorragie des muscles, noeuds lymphatiques, vaisseaux sanguins. Quelques cas d'oedeme sous cutane sont decrits. La cavite abdominale est remplie d'un liquide d'epanchement sero-hemorragique. Les reins subissent une autolyse precoce et le foie est hypertrophie. L'abomasum reste en position normale, mais la muqueuse est fortement congestionnee et ulcere. Les autres segments du tractus digestif sont normaux, avec parfois une meteorisation du caecum ou quelques hemorragies de la muqueuse. La cavite thoracique presente dans la moitie des cas des petechies et hemorragies principalement sur le thymus et le pericarde.

➤ **Adulte :**

Le tableau lesionnel est varie. On observe une autolyse precoce des carcasses. Certaines presentent une forte inflammation : congestion intense generalisee, oedeme sous cutane, peritonite avec epanchement abdominal d'environ 1- 2L de liquide fibrino-hemorragique. La caillette est ulcere sur la grande courbure, mais l'abomasite n'est pas systematique. Quelques portions intestinales peuvent etre congestionnees : jejunum distal, ileon proximal. Le caecum est parfois tympanique. Le rein subit une autolyse precoce.

II.4.1.6 Enterotoxemie a *C.septicum* :

L'autopsie des ovins revele une inflammation aigue de la caillette. La muqueuse et la sous muqueuse abomasales sont oedematisees et hemorragiques. Des ulcerations sont parfois decelees. Les anses intestinales sont souvent distendues par les gaz. Des epanchements sereux sont parfois visibles dans les cavites abdominales, thoraciques et pericardiques. Les sereuses (mesentere, epicarde, endocarde, plevres...) presentent des petechies. [Popoff 1994] Le nombre de cas extremement faible d'enterotoxemie a *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 enterotoxémies 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 enterotoxémies 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 nécropsique. Non seulement elle précise la nature des lésions visibles à l'œil nu au cours de l'autopsie, mais elle permet aussi de mettre en évidence des altérations cellulaires au niveau de l'encéphale [Uzal 2004, Uzal *et al.* 1997, Uzal *et al.* 2004]. Comme précédemment, la majorité des études porte sur les lésions dues à la toxine ε.

➤ **Poumons :**

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

➤ **Foie :**

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

➤ **Intestin grêle :**

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

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

➤ **Gros intestin :**

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

Les lésions du colon sont très fréquentes dans l'espèce caprine. Si la colite est peu intense, on ne décelé 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 pyknotique 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 liséré basophile. La lumière colique est remplie

de debris muqueux, de fibrine et de cellules inflammatoires neutrophiles. Les couches sous muqueuse, musculuse, *lamina propria* et sereuse presentent des lesions d'oedeme. Les nombreux debris cellulaires eosinophiliques et basophiliques dans la lumiere intestinale sont des debris de mucine et de fibrine [Blackwell *et al.* 1991].

➤ **Rein :**

Aucune modification histologique n'est visible si l'autopsie est realisee immediatement apres la mort. Les lesions caracteristiques du « rein pulpeux » resultent de l'autolyse acceleree des tissus par la toxine ϵ . Il s'agit donc d'un phenomene post-mortem. Cependant, pour conforter cette hypothese, il serait interessant de comparer la cinetique d'autolyse des organes sur des animaux atteints d'enterotoxemie et des animaux sains. Tant qu'elle n'aura pas ete etudiee, l'histologie du rein ne peut constituer une preuve diagnostique [Uzal 2004]. L'examen histologique du rein chez l'agneau et chez le chevreau est normal, s'il a lieu immediatement apres la mort. L'agneau peut toutefois presenter des hemorragies multifocales corticales [Blackwell *et al.* 1991, Uzal *et al.* 2004]. Dans le cas d'un examen quelques heures apres la mort, on observe une autolyse cellulaire des tubules proximaux et distaux chez les ovins [Uzal *et al.* 2004].

➤ **Vaisseaux sanguins :**

On observe un oedeme perivascularaire, acidophile et homogene sur l'ensemble du reseau arteriel. Ces lesions sont visibles chez les ovins et les caprins.

➤ **Vaisseaux lymphatiques :**

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

➤ **Encephale :**

Peu de lesions sont observables chez la chevre. L'injection de toxine ϵ chez le chevreau provoque une symptomatologie nerveuse, mais aucune lesion cerebrale n'apparait. Le chevreau peut tolerer les memes doses de toxine ϵ que l'agneau sans developper aucune lesion cephalique. Les symptomes nerveux tels que les convulsions et le pedalage sont probablement dus a l'hypoxie induite par l'oedeme pulmonaire et non aux effets de la toxine ϵ sur l'encephale [Shoenian 2005]. Dans les formes suraigues et aigues, on peut toutefois observer un oedeme homogene acidophile perivascularaire (surtout les arteres) de la capsule interne et des *coliculi* ainsi qu'une degenerescence de la substance blanche. Les lesions sont symetriques et bilaterales [Uzal *et al.* 1997, Uzal et Kelly 1998]. Chez les ovins, les lesions apparaissent quelques heures apres les premiers symptomes.

L'encephale est marque par un oedeme perivascularaire, la presence de plages acidophiles en peripherie des arterioles et des veinules, une degenerescence et necrose de la matiere blanche, un gonflement des astrocytes et des axones, et une vacuolisation des cellules gliales. La localisation des foyers d'encephalomalacie est symetrique et bilaterale (figure 12). Ces lesions se situent sur la capsule interne, le thalamus, les pedoncules cerebelleux et le *cerebellum*. La severite des lesions est directement liee a la quantite de toxine presente dans le milieu [Shoenian 2005, Uzal *et al.* 1997, Uzal *et al.* 2004].

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

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

2-5 : respectivement

a : capsule interne

b : thalamus

c : tronc de l'encéphale

d : pédoncule cérébelleux

e : cervelet

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

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

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

II.5. DIAGNOSTIC :

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

II.5.1. PRELEVEMENTS :

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 prelevement est effectue 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 bacteriologique. Mais ces delai sont difficilement realisable en elevage [Daube 1992, Philippeau *et al.* 2003].

En effet, la labilite des toxines dans le contenu intestinal oblige a effectuer les prelevements sur cadavre frais, et eventuellement a les refrigerer en attente d'analyse. Un prelevement tardif accroit donc les risques de resultats « faux negatifs » [Philippeau *et al.* 2003]. Par ailleurs, l'anaerobiose *post mortem* est une condition favorable a la multiplication et la diffusion des clostridies dans l'organisme, tant chez l'animal mort d'enterotoxemie que chez l'animal sain. La cinetique de croissance bacterienne dans le contenu intestinal apres la mort reste a etudier chez les petits ruminants. Un prelevement trop tardif ne permet plus de differencier sur la base du denombrement bacterien, un animal enterotoxemique d'un animal sain ou mort d'une autre cause [Philippeau *et al.* 2003]. Le segment digestif a prelever varie selon l'espece. Chez les ovins il est interessant de prelever au niveau de l'intestin grele, tandis que chez les caprins, les segments lases sont davantage situes en aval : caecum et colon. Deux techniques sont possibles pour le prelevement du contenu digestif, mais dans tous les cas l'anaerobiose doit etre maintenue. La premiere technique preconise de remplir des flacons steriles a ras bord avec le simple contenu digestif et de les fermer hermetiquement [Philippeau *et al.* 2003]. Dans la seconde, des portions de tractus digestif d'environ 15 cm sont prelevees et ligaturees de maniere a preserver l'anaerobiose [Van Metre *et al.* 2000]. Dans ce cas, le denombrement bacterien risque d'etre sous estime, donc peu fiable [Latour 2004].

Les prelevements sont effectues rapidement a cause de la croissance bacterienne et de la labilite des toxines. La concentration de la toxine ϵ chute de 90% en 24 heures dans le tractus digestif de l'animal mort [Blackwell *et al.* 1991]. Les prelevements sont envoyes au laboratoire d'analyse, avec un delai de conservation maximal de 24 heures a 4°C. La congelation est proscrite car non supportee par les clostridies [Philippeau *et al.* 2003]. L'addition de conservateurs comme le formol classiquement utilise pour conserver les prelevements en vue d'une etude histologique, est susceptible de compliquer l'interpretation des tests.

L'anaerobiose doit etre conservee et l'emploi de conservateurs est egalement deconseille.

II.5.1.2 Urine :

Les urines sont facile a prelever et constituent une precieuse aide diagnostique. Sur un ovin vivant, une courte periode d'asphyxie provoque l'emission d'urine. Pour cela, il suffit d'appliquer la main sur la bouche et le nez de l'animal. Cette manoeuvre est sans danger, meme sur un animal tres abattu. Au cours d'une autopsie, le prelevement d'urine est riche d'enseignement (*cf.* III.3.2.5.1). Cet acte quasi indispensable chez les ovins n'est pas forcement realiser chez les caprins En effet, chez les ovins, la presence de glucose dans les urines est quasi constante, alors que dans l'espece caprine, l'inconstance de la glucosurie rend se parametre peu fiable. [Popoff 1979, Uzal 2004, Uzal *et al.* 2004].

II.5.1.3 Liquide pericardique :

Ce prelevement est effectue au cours de l'examen necropsique. Il semble davantage utile chez la chevre que chez le mouton. La detection de glucose dans le liquide pericardique chez la chevre morte d'enterotoxemie est relativement constante [Uzal 2004].

II.5.1.4 Tissus et autres serosites :

Ce genre de prelevement est realise plus souvent dans le domaine de la recherche et peu en pratique. L'objectif principal est la mise en evidence des bacteries, des toxines ou des lesions.

Les serosites sont prelevees sur tube sec ou dans un pot sterile. La toxine ϵ tolere une conservation longue, evaluee a 48 semaines a 4°C [Uzal 2004]. La congelation des prelevements est possible (sauf en vue d'un examen bacteriologique). Elle evite la labilite de la toxine ϵ , mais elle mal toleree par la toxine β . L'utilisation de conservateurs est deconseillee car elle complique l'interpretation des tests [Van Metre *et al.* 2000]. Des fragments d'organe peuvent etre egalement destines a l'examen histologique, on les conserve alors dans une solution de formol a 10% [Mariano et Uzal 2005]. Les organes concernes a la microscopie sont les organes cibles des toxines : encephale surtout chez les ovins, paroi digestive surtout chez les caprins, le foie, les reins, la rate, les poumons et des elements de l'appareil circulatoire. Les parties lesees sont prelevees pour la recherche et le denombrement bacteriologique

II.5.1.5 Sang :

La prise de sang est effectuee sur tube sec pour effectuer une recherche serologique ou sur tube heparine pour etablir un profil biochimique (cf. III.3.2.5.3). Chez les petits ruminants, ce test est facultatif car pauvre en renseignement ou trop couteux.

II.5.2.METHODES DIAGNOSTIQUE :

II.5.2.1 Etude bacteriologique :

L'identification et le denombrement bacterien sont realisables en routine dans les laboratoires, car faciles et peu couteux. En regle generale, elle se fait sur contenu digestif, sang ou organes lesees. Elle est la methode de choix en clientele. La cinetique de croissance et le denombrement bacterien, ont ete davantage etudies chez les ovins. En pratique, les caprins sont assimiles aux ovins pour l'interpretation de leurs resultats. La valeur diagnostique de l'identification et du denombrement est variable selon l'espece et le type de *Clostridium* [Uzal 2004, Uzal et Kelly 1996].

IDENTIFICATION :

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

L'interpretation de l'isolement d'une souche de *Clostridium* sur contenu digestif, varie selon les publications. Le desaccord entre les differents auteurs repose sur la presence de *C. perfringens* dans l'intestin des animaux sains. Le simple isolement de la bacterie chez un animal malade n'a donc pas de valeur diagnostique [Uzal 2004]. Cependant, la probabilite d'isoler *Clostridium* chez l'animal sain change en fonction du type de *Clostridium* considere et de son hote. Pour certains auteurs, *C. perfringens* type A a une croissance tellement rapide sur culture anaerobie qu'elle peut cacher la presence eventuelle d'autres pathogenes. Une culture positive pour ce germe, peut rendre le diagnostic plus difficile (Tableau IX) [Van Metre *et al.* 2000].

Chez l'adulte :

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

Chez le jeune :

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

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

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

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

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

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

DENOMBREMENT :

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

Au moment de la mort, les fractions bacteriennes augmentent. Il n'y a pas de difference significative d'augmentation relative des coliformes et des enterocoques en fonction de l'origine de la mort (enterotoxemie ou autre). En revanche, l'augmentation des sulfitereducteurs (principalement les clostridies) permet d'orienter le diagnostic. Avec un cycle de 10 minutes, une bacterie *C. perfringens* type A initiale peut se multiplier pour atteindre la valeur significative de 10⁷ UFC/mL dans l'intestin grele dans les 6 premieres heures. [Latour 2004, Philippeau *et al.* 2003] La concentration de *C. perfringens* augmente lentement dans la caillette et le caecum des ruminants [Philippeau *et al.* 2003]. Il existe 2 seuils au-dela desquels il y a maladie. Si on denombre plus de 10⁶ UFC/mL sur un prelevement issu d'un animal cliniquement suspect, on considere que l'animal etait atteint d'enterotoxemie. Cette valeur est valable apres une culture sur milieu TSNR. De plus, les conditions de prelevement et de conservation suivantes sont indispensables : prelevement effectue dans les heures qui suivent la mort et conservation en anaerobiose pendant 24h a 4°C.

Pour une culture sur gelose au sang, avec de la cycloserine et en chambre anaerobie, la valeur seuil sera 10⁸ UFC/mL. De meme, hors donnees epidemiologiques, on considere qu'il y a maladie si on denombre plus de 10⁸ UFC/mL chez les bovins [Latour 2004]. Les populations clostridiennes de types B et C subissent une augmentation moindre, plus ou moins similaire à celle d'animaux sains. Les informations concernant le nombre normal et les variations *post mortem* de clostridies chez les moutons et les chevres sains sont quasi inexistantes [Uzal 2004].

L'identification et le denombrement des clostridies sont des techniques de diagnostic dont l'interpretation est controversee. D'une maniere generale, les resultats sont a etudier en parallele de la situation epidemiologique, de la clinique et des lesions. Leur interpretation en dehors de tout contexte est impossible. De plus, plusieurs parametres conditionnent les resultats comme le mode de culture et les conditions de prelevement et de conservation. L'identification de *Clostridium* dans l'intestin s'interprete de facon differente selon le type de *Clostridium* et son hote. Chez le jeune, la mise en evidence de *C. perfringens* types B et C a une valeur diagnostique consideree comme etant fiable. Chez l'adulte, l'identification de *C. perfringens* type A n'a aucun interet diagnostique tant chez les ovins que chez les caprins. En revanche, *C. perfringens* type D etant rare chez les chevres saines, son identification dans le tractus digestif est un bon indicateur d'enterotoxemie. Des donnees comparatives concernant la cinetique de croissance bacterienne *post mortem* chez l'animal sain et l'animal mort d'enterotoxemie seraient interessantes. Les chiffres actuellement disponibles sur le denombrement bacterien dans le contenu intestinal sont issus d'etudes 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 frequemment utilise en pratique. Les laboratoires fournissent une interpretation basee sur des normes bovines.

II.5.2.2 Le typage :

Il existe plusieurs techniques de typage des souches de *Clostridium perfringens* a partir de contenu intestinal ou de serosites. On recherche les toxines produites. Le typage permet une interpretation plus juste du denombrement clostridien.

MOUSE NEUTRALISATION TEST (MNT) :

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

Le principe est d'injecter a une souris des toxines et les anticorps presumes correspondants. La mort de l'animal signifie qu'on lui a injecte une toxine sans son anticorps neutralisant. On peut alors deduire le type de toxine responsable du deces. Cette methode est sensible et specifique. Elle pose cependant un probleme ethique [Latour 2004].

ELISA SUR CONTENU INTESTINAL OU SUR SEROSITE :

Definition :

Enzyme Linked Immunosorbent Assay :

Technique de detection ou de dosage immuno-enzymatique ou la reaction antigene-anticorps est revelee par l'action d'une enzyme (couplee a l'anticorps ou a l'antigene) sur un substrat chromogene [Dart 2005].

L'objectif est de mettre en evidence les antigenes de toxine. La sensibilite et la specificite du test dependent de l'anticorps utilise et de la technique de marquage. De plus il est necessaire de realiser l'experience pour chaque toxine separement [Latour 2004, Uzal 2004].

Toxine α :

Le test ELISA dispose d'une tres bonne sensibilite pour la toxine α . Il permet donc de detecter des taux tres faibles de toxine. Faute de definition d'un seuil approprie, il devient impossible de differencier un animal sain d'un animal malade. Le test MNT serait plus approprie car il est beaucoup moins sensible. Il ne detecte pas les faibles taux de toxine α et ne fournit un resultat positif que sur les animaux malades uniquement [Uzal 2004].

Toxine ϵ :

Il a ete demontre que de faibles taux de toxine ϵ existaient chez les animaux sains. Dans ce cas, les tests conventionnels ne detectent *a priori* pas la toxine ϵ . La sensibilite du test ELISA par capture polyclonale est estimee a 91%. Ce test obtient de meilleurs resultats sur contenu digestif que sur serosites. Un resultat positif sur un animal cliniquement suspect est donc fortement indicateur d'une infection a *Clostridium perfringens* type D. En revanche, un resultat positif sur un animal asymptomatique ne peut etre interprete, car le test ELISA peut

mettre en evidence des taux de toxines insuffisants pour provoquer la maladie. La specificite du test est evaluee a 100%. Mais si le test est negatif, l'interpretation n'est encore pas evidente car la toxine ϵ passe rapidement dans l'organisme en disparaissant du contenu intestinal [Uzal 2004, Uzal *et al.* 2003].

Toxine β :

Cette toxine est rapidement detruite par la trypsine digestive. Elle n'est donc pas souvent recherchee. Un resultat positif sur un animal suspect d'enterotoxemie, permet de conclure au diagnostic de maladie a *C. perfringens* type C, ou a type B si la toxine ϵ est egalement mise en evidence [Uzal 2004].

AGGLUTINATION SUR BILLES DE LATEX :

Cette technique qualitative est tres ancienne et aujourd'hui peu utilisee. Les toxines adherent sur des anticorps anti-toxine presentes sur les billes de latex. Ce test est reactualise pour la detection de la toxine ϵ . Sa sensibilite et sa specificite etant inferieures a celles du test ELISA, les faibles taux de toxine ϵ (animal sain) ne sont pas detectes, ce qui diminue le risque de faux positifs sur contenu digestif. De plus, il est facile a realiser et peu couteux [Leonhart 2004].

PCR (POLYMERASE CHAIN REACTION) :

La PCR est un test qualitatif, qui offre une sensibilite elevee. Tous les genes presents, meme les plus instables car localises sur les plasmides (gene de la toxine ϵ), peuvent etre detectes. De plus, la sporulation n'interfere pas, ce qui contribue à diminuer le nombre de faux negatifs. En revanche, la specificite du test est moins bonne, car il renseigne sur la presence d'un gene et non de la toxine elle-meme. La detection d'un gene ne permet pas d'affirmer que la toxine qu'il code est responsable de la mort de l'animal.

Actuellement, cette technique est principalement utilisee avec les genes *cpa*, *etx* et *cpb* codant respectivement pour les toxines α , ϵ et β [Songer 1998].

Gène amplifié	Toxines recherchées	Type de <i>Clostridium perfringens</i>
<i>cpa</i>	α	A, B, C, D, E
<i>cpb</i>	β	B et C
<i>etx</i>	ϵ	B et D

Chez les animaux sains, on detecte systematiquement le gene *cpa*, caracteristique de *C. perfringens*. Chez les animaux suspects d'enterotoxemie, on met le plus souvent en evidence les genes *cpa* et *etx*, dont l'association est caracteristique de *C. perfringens* type D. Le gene *cpb* est rarement detecte chez les ovins et les caprins suspects d'enterotoxemie car soit *C. perfringens* type B et C sont peu courants dans ces especes, soit ce gene est instable de par sa situation sur un plasmide. L'amplification des genes *cpa* et *etx* chez les animaux sains est possible et temoigne d'un portage asymptotique de *C. perfringens* type D ou d'un episode d'enterotoxemie passe. Un denombrement est alors necessaire pour objectiver un reel cas de maladie [Manteca 2003].

Deux limites s'opposent à l'utilisation de cette technique. La premiere est son aspect uniquement qualitatif. Elle ne peut donc etre pratiquee independamment d'un denombrement de bacteries. La PCR quantitative reste du domaine de la recherche. Cette technique consiste à calculer la concentration initiale d'ADN recherche. Apres avoir defini des valeurs seuil de quantite d'ADN en fonction du type recherche, elle permettrait de conclure au diagnostic d'enterotoxemie.

Par ailleurs, la PCR devient un sujet à controverse dans la mesure ou la detection d'un gene ne signifie pas qu'il a ete exprime. L'amplification de gene de toxine ne permet donc pas d'affirmer que cette toxine etait presente dans le prelevement. Elle permet seulement de typer les clostridies dans le tractus digestif, sans pour autant confirmer leur role dans le processus pathologique [Miserez *et al.* 1998].

Cette methode diagnostique est aujourd'hui privilegiee aux autres car la sensibilite et la specificite sont bonnes, tout en restant relativement peu onereuse. Sa rapidite de mise en oeuvre permet l'analyse d'un plus grand nombre de colonies issues d'un meme prelevement. La technique PCR trouve davantage d'utilite chez les caprins, chez qui les symptomes et les lésions sont peu caracteristiques [Miserez *et al.* 1998].

II.5.2.3 L'identification directe par coloration des bacteries in situ :

Un calque et une coloration de GRAM de la muqueuse intestinale duodenale et colique revelent une multitude de batonnets fins, courts et aux bords arrondis, souvent non sporules, colores GRAM positif. *C. perfringens* type D peut etre isole egalement au niveau des reins et de l'encephale. Sans etre un diagnostic d'exclusion, la coloration GRAM conduit à conforter une suspicion clinique de clostridiose [Uzal 2004, Uzal et Kelly1 1998]. Le test sur la muqueuse intestinale est rapide, facile a mettre en place sur le terrain et reste un bon indicateur d'enterotoxemie chez les petits ruminants. La mise en evidence des bacteries ne confirme pas le diagnostic, elle renforce une suspicion.

II.5.2.4 Serologie :

Chez les ovins, la majeure partie des signes cliniques et des lesions est attribuee a la toxine ϵ . Chez les caprins, l'importance relative de chacune des toxines n'a pas encore ete evaluee. *Clostridium perfringens* type D produit aussi la toxine α et plusieurs toxines mineures. Il est possible que les lesions resultent d'un effet combine de ces toxines. En pratique, on recherche uniquement la presence des anticorps anti-toxine ϵ dans le sang, via un test ELISA [Uzal et Kelly1 1998].

II.5.2.5 Etude des modifications due a l'intoxination :

URINE :

Les urines sont analysees avec une bandelette reactive.

pH urinaire :

Chez les ovins, le pH urinaire physiologique se situe autour de 7-8. Dans plus de la moitie des cas averes d'enterotoxemie, les urines sont acides, a condition que le prelevement soit precoce apres la mort. L'acidose, dont les facteurs de risque et la clinique peuvent etre confondus avec ceux de l'enterotoxemie, provoque aussi une acidification des urines. Cette acidification est cependant plus franche et plus precoce que dans les cas d'enterotoxemie. Le pH urinaire est un indicateur important pour differencier une hypocalcemie et une forme comateuse d'enterotoxemie : dans le cas d'une hypocalcemie, les urines sont alcalines [Popoff 1979, Uzal 2004].

Cetonurie :

Elle est rarement presente en cas d'enterotoxemie, elle permet le diagnostic differentiel avec la toxemie de gestation, les cetoses et les maladies nerveuses liees a l'ensilage (listeriose).

Proteinurie :

Une augmentation moderee peut etre mise en evidence, mais elle n'est systematique ni chez les ovins, ni chez les caprins.

Glucosurie :

Elle renforce une suspicion clinique. Ce parametre permet une orientation diagnostique sans en etre une preuve absolue, car de nombreuses affections provoquent egalement une glucosurie : l'hypocalcemie, des troubles phosphocalciques, une alcalose consecutive a une alimentation riche en proteines, une insuffisance renale, une urolithiases, une atteinte hepatique et musculaire, une infection, le stress... Les autres parametres urinaires et surtout l'etude clinique, necropsique et de laboratoire sont indispensables pour effectuer le diagnostic differentiel.

L'induction experimentale d'une enterotoxemie de type D chez l'agneau, induit systematiquement une glucosurie [Blackwell *et al.* 1991]. La presence 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 trouve que parmi 47 cas autopsies pour enterotoxemie, il y avait 100% de glucosurie positive. Il en a deduit qu'une absence de glucosurie permettait d'exclure avec certitude une suspicion de la maladie chez les ovins. Selon ce meme auteur, une glucosurie massive sans aucun autre symptome chez un agneau (ovin de moins de 6 mois), serait le signe d'une enterotoxemie à *C. perfringens*. Un ovin adulte presentant des troubles nerveux associes a une glucosurie massive avec un pH urinaire acide ou neutre serait atteint d'enterotoxemie [Popoff 1979]. Au contraire des etudes plus recentes montrent que ce parametre est inconstant. FA. Uzal trouve que seulement 50% des ovins chez qui il a induit une enterotoxemie, ont une glucosurie positive. L'absence de glucose dans les urines n'est pas un argument suffisant pour exclure le diagnostic d'enterotoxemie [Uzal 2004].

Chez la chevre, la glucosurie est un parametre inconstant. Son absence n'est pas rare et sa mise en evidence doit etre associee aux signes cliniques. Une valeur de glucose urinaire comprise entre 50 et 300 mg/dL, est fortement indicatrice d'enterotoxemie [Blackwell *et al.* 1991, Uzal 2004].

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

Une enterotoxemie à *C. sordellii* ne provoque jamais de glucosurie. Si on suspecte cette bacterie comme responsable de la maladie, et qu'une glucosurie est detectee, c'est qu'il y a une affection concomittante. La recherche du glucose dans les urines est un element important du diagnostic differentiel entre *C. sordellii* et *C. perfringens* [Popoff 1979, Uzal et Kelly 1998, Uzal 2004].

LIQUIDE PERICARDIQUE :

La presence de glucose dans le liquide pericardique est un parametre apparemment plus fiable, car plus frequent que la glucosurie chez les chevres. En pratique, il n'existe pas de test commercialise pour doser quantitativement ou qualitativement la presence de glucose dans l'epanchement pericardique. En pratique, une bandelette urinaire pourrait servir, mais aucune etude ne permet de valider ce test. Le ReflovetR apres filtration et centrifugation du liquide serait le test le plus fiable mais irrealisable en pratique [SCIL 2005, Uzal 2004].

SANG :

Uremie et creatinemie :

Ce sont les temoins d'une insuffisance renale. Ces parametres augmentent considerablement chez les chevreaux et agneaux atteints d'une toxemie due à la toxine ϵ . La hausse de l'osmolarite sanguine est accentuee par les pertes liquidiennes dues aux diarrhees et aux dommages vasculaires. Mais les signes d'insuffisance renale sont rares et trop tardifs pour etre detectes. La creatinemie et l'uremie ne seraient donc pas fiables [Uzal et Kelly 1996, Uzal 2004].

Glycemie :

Chez les ovins, elle peut atteindre une valeur triple de la valeur normale, soit entre 120 et 250 mg/100 mL [Popoff 1979]. L'induction experimentale d'une enterotoxemie de type D chez l'agneau et le cheveau provoque une augmentation similaire de la glycemie dans les 2 especes. Les chevreaux subissent une augmentation moindre, mais la difference n'est *a priori* pas significative [Blackwell *et al.* 1991].

Formule sanguine :

Chez les animaux vivants la numeration cellulaire augmente rapidement a 16 000 leucocytes/mm³ et peut plafonner a 47 000 leucocytes/mm³. La mesure des taux de leucocytes permettrait une detection precoce des animaux infects [Uzal 2004].

Ionogramme :

Les ions K⁺, Na⁺ et Cl⁻ semblent conserver une valeur normale [Popoff 1979, Uzal 2004].

En pratique, les examens de laboratoire ne sont pas realises systematiquement. Le diagnostic repose sur des elements epidemiologiques et cliniques de la maladie. Un episode de mortalite subite des agneaux, avec des troubles nerveux, associes ou non a une diarrhee peu parfois suffire. De meme chez la chevre laitiere, la mort brutale de plusieurs individus, presentant une diarrhee hemorragique est suffisamment caracteristique pour conclure au diagnostic de la maladie.

Compte tenu de la faible valeur economique individuelle des petits ruminants, l'autopsie n'est demandee qu'apres la perte de plusieurs individus. Elle reste l'examen de choix. Les ovins presentent peu de lesions caracteristiques, d'ou l'interet d'effectuer des examens complementaires. Les caprins presentent des lesions plus typiques, notamment au niveau du tractus digestif, avec une enterite hemorragique. Les urines et le liquide pericardique sont 2 elements interessant à prelever. La glucosurie est un bon indicateur d'enterotoxemie. Ce test est particulierement important chez les ovins, bien qu'il ne soit pas constant. La presence de glucose dans le liquide pericardique a une valeur diagnostique forte, surtout chez les caprins, mais aucun test rapide et realisable sur le terrain, n'existe a ce jour.

Si des examens complementaires sont requis, le veterinaire envoie au laboratoire un prelevement de contenu digestif et eventuellement un prelevement sanguin, sur suspicion clinique et necropsique. Les examens le plus frequemment effectues sont : l'identification et le denombrement apres culture cellulaire puis eventuellement le typage par test ELISA. Les resultats sont fournis d'apres des normes bovines en general. Les autres techniques diagnostiques ne sont utilisees que dans le domaine de la recherche.

2. MOYENS DE LUTTE :

Etant donnees la rapidite d'evolution et la severite des symptomes, le pronostic est tres sombre. Le traitement est souvent illusoire. On considere que si l'animal se retablit, il y avait erreur sur le diagnostic. Toutefois, le traitement peut etre mis en oeuvre sur les formes moderees ou en debut d'infection. Les animaux vaccines demeurent plus receptifs au traitement et beneficent d'un meilleur pronostic.

II.6.TRAITEMENT :

II.6.1.MESURES HYGIENIQUES :

En cas de presence d'enterotoxemie dans un elevage, la premiere mesure consiste a diminuer ou a supprimer les rations d'engraissement et de lactation ou a rentrer les animaux des paturages luxuriants et a les maintenir a un regime pauvre a base de foin. Apres 1 a 3 semaines, les quantites d'aliments concentres pourront etre augmentees progressivement, et reparties sur plusieurs repas au cours de la journee.

La distribution de foin grossier ou la mise en paturage est recommandee pour assurer un apport suffisant en fibres. Lorsque des cas d'enterotoxemie surviennent chez des jeunes a l'allaitement, il est conseille de diminuer temporairement la ration ou l'herbage des meres de maniere a reduire la production lactee [Popoff 1994].

Un traitement anthelminthique est a prevoir si les animaux sont parasites.

Des mesures de desinfection des locaux et du materiel des jeunes animaux peuvent etre instaurees. Les meres doivent etre isolees a la mise bas [Latour 2004].

II.6.2.MESURES MEDICALES :

II.6.2.1 Traitement symptomatique :

Le traitement symptomatique consiste à lutter contre l'état de choc lie a l'intoxication et aux pertes hydriques. Une rehydratation avec un solute salin ou glucose est de rigueur.

II.6.2.2 Antibiotherapie :

L'antibiotherapie vise a reduire la proliferation des clostridies dans l'intestin et dans l'organisme. Ils limitent ou suppriment la production de toxine, mais la toxine secretee anterieurement n'est pas inactivee : les antibiotiques n'ont donc que peu d'effets sur les stades avances de la maladie [Ann.3 2005].

L'antibiotique de choix reste la famille des penicillines. Les antibiotiques a base de cephalosporines, tetracyclines, erythrocyne-lincomycine sont souvent inoperants.

L'antibiotherapie echoue tres souvent. Lors d'infection a *C. septicum*, on suppose que la raison de cet echec est encore hypothetique, mais on pense qu'on peut l'attribuer aux protoxines α , dont le pouvoir pathogene s'exprime bien apres la disparition de *C. septicum*. L'antibiotique est donc administre souvent trop tard, meme lorsqu'une metaphylaxie est tentee [Manteca *et al.* 2005].

II.6.2.3 Serotherapie :

La serotherapie peut etre employee pour le traitement des infections diagnostiquees precocement [Ann.1 2005]. L'activite des toxines clostridiennes est inhibee par les anticorps specifiques (antitoxines).

Une chevre peut etre sauvee par l'administration de 25 mL d'un serum contenant l'antitoxine de *C. perfringens* C et D adjoint d'un traitement antibiotique a base de sulfamides [Blackwell et Butler 1992]. Cependant les antitoxines inhibent uniquement les toxines circulantes et ne peuvent pas agir sur les toxines fixees sur leur recepteur. [Dart 2005] De plus, les doses de serum sont importantes et donc tres couteuses. La serotherapie est donc rarement prescrite a titre curatif [Popoff 1989].

En plus de la vaccination, l'antitoxine peut entrer dans un programme de prevention chez les animaux à risque. L'antitoxine fournira a un animal 10 jours a 3 semaines de protection

II.6.2.4 Phytotherapie :

Au Mexique, certaines plantes traditionnellement utilisees dans le traitement des affections gastro-intestinales, exercent action inhibitrice sur la croissance, la sporulation et la production d'enterotoxine de *C. perfringens* type A. Quant aux autres types de *C. perfringens*, aucune donnee n'a ete publiee.

Les extraits de *Psidium guavara*, *Haemotoxylon basiletto* et *Euphobia prostata* ont une activite anti-clostridienne. Il a ete demontre que *P. guavara* aurait une activite antidiarreeque par ralentissement du peristaltisme intestinal (observe *in vitro*)

Ces plantes peuvent etre utilisees a titre curatif mais aussi a titre preventif en les melant a l'alimentation [Garcia *et al.* 2002].

Le choix d'instaurer un traitement d'enterotoxemie est rare pour 2 raisons : la rapidite d'evolution de la maladie et la faible valeur economique des petits ruminants. Sa mise en oeuvre est identique chez les ovins et les caprins. Le traitement symptomatique est primordial, il est associe a une antibiotherapie a base de penicilline. Le pronostic reste cependant tres sombre. La serotherapie donne de bons resultats mais elle est trop couteuse.

II.7.PROPHYLAXIE :

II.7.1.MAITRISE DES FACTEURS DE RISQUE :

La maitrise des facteurs de risque debute par la gestion du rationnement : il faut eviter les rations acidogenes, les paturages luxuriants et prevoir des periodes de transition alimentaires. Il est donc recommande de mesurer la qualite et la quantite des aliments en fonction du stade physiologique des animaux : composants de la ration (taux en glucides a fermentation rapide, pH des ensilages), taille des particules (40% de la MS sous forme de particules superieures a 2 mm), rapport concentres/fourrages environ 40%)... [Sauvant *et al.* 1999]

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

La gestion du parasitisme constitue le second point de la maitrise des facteurs de risque. Elle est l'une des principales problematiques en elevage de petits ruminants. Ce parametre represente un element de prevention important.

La prevention des enterotoxemies par la maitrise des facteurs de risque n'est pas fiable a 100%. En pratique, meme les eleveurs les plus consciencieux connaissent des cas isoles ou

des epizooties d'enterotoxemie. La maitrise efficace de la maladie necessite de vacciner le troupeau.

II.7.2.VACCINATION :

II.7.2.1 Preparation des vaccins :

OBTENTION DES ANTIGENES :

Pour la preparation de chaque vaccin, on selectionne la souche qui produit le titre le plus eleve de toxine. L'origine de cette souche n'a pas d'importance. Ainsi, une souche de *C. perfringens* Disolee chez un bovin de Nouvelle Zelande est une aussi bonne candidate qu'une souche ovine isolee en France. Il n'a pas ete observe de derive antigenique parmi les toxines de *Clostridium* [Popoff 1989].

Les bacteries sont cultivees en grande quantite dans des cuves a fermentation dans les conditions qui permettent le meilleur rendement de production de toxine. Apres traitement au formoldehyde, les organismes sont centrifuges. La toxine est recuperee dans le surnageant. Il s'agit alors d'un « toxoid ». Le vaccin commercialise par les laboratoires Schering-Plough, CovexinR 8 est un exemple de vaccin fabrique a partir de « toxoid ».

La quantite de toxine produite en phase de croissance est mesuree par un test de l'activite enzymatique (lecithinase, hemolyse...) ou par un test *in vivo* comme le test MNT. La valeur est exprimee en dose minimale hemolytique, en terme de dose letale (DL50 pour la souris), ou en equivalent standard en antitoxine.

Dans la mesure ou le retrait de *C. perfringens* induit une perte considerable de l'efficacite vaccinale, certains fabricants prennent le parti de laisser les cellules bacteriennes dans la preparation pour creer une double immunité. Cette technique obtient de bons resultats, notamment avec le vaccin XentoR produit par Schering-Plough.

L'antigene est ensuite associe a un adjuvant. A ce stade, chaque lot de vaccin subit une serie de controles chimiques, de sterilité, d'innocuite et d'efficacite.

L'efficacite du vaccin est verifiee sur des animaux de laboratoire. Selon un protocole standard, on determine le titre en anticorps neutralisant induits par la vaccination. Les resultats sont exprimes en unites internationales. Pour chaque valence, les vaccins doivent induire un titre minimum d'anticorps neutralisant, normes definies comme assurant une protection suffisante contre les enterotoxemies survenant spontanement. Les vaccins a *C. sordellii* sont testes apres epreuve virulente : les animaux doivent etre proteges contre une injection standardisee de *Clostridium* toxinogene [Popoff 1989].

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

La mise au point de vaccins multivalents est onereuse et delicate. Il serait plus judicieux d'adapter les formules des vaccins aux conditions epidemiologiques. Un nombre eleve de valences peut remettre en cause leur efficacite. La prescription du vaccin approprié procure souvent de meilleurs resultats que ceux d'un vaccin large spectre [Popoff 1989].

CHOIX DE L'ADJUVANT :

Les adjuvants potentialisent la reaction immunitaire.

Sels minéraux :

Les vaccins contre l'enterotoxemie sont le plus souvent adjuves de sel mineral, comme l'hydroxyde d'aluminium, le phosphate d'aluminium ou le sulfate d'aluminium et de potassium. Mais le choix de l'adjuvant conditionne la qualite de la reponse immunitaire. Chez le mouton, les animaux vaccines avec un vaccin adjuve au sulfate de potassium et d'aluminium ne produisent pas assez d'anticorps pour etre proteges (100% letalite sur test MNT), meme lorsque la dose vaccinale augmente. En revanche, 2 mL de vaccin adjuve à l'hydroxyde d'aluminium permettent une immunité satisfaisante (test MNT negatif) [Srinivasan *et al.* 2001]. Des resultats similaires sont obtenus chez les chevres [Uzal et Kelly2 1998]. L'hydroxyde d'aluminium est l'adjuvant le plus utilise par les fabricants.

Adjuvants huileux :

Les adjuvants huileux obtiennent de meilleurs resultats que les autres adjuvants. Ils permettent une protection locale et generale sur 100% des sujets vaccines [Uzal et Kelly2 1998].

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

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

Mais les adjuvants huileux beneficient d'une moins bonne resorption. Ils sont rarement utilises a cause d'une forte reaction au site d'injection. Pour pallier cette intolerance locale, une injection intra-musculaire peut etre pratiquee [Walker 1992].

Les adjuvants huileux sont utilises dans l'industrie pharmaceutique pour produire des chevres hyper-immunisees [Uzal et Kelly2 1998].

II.7.2.2 Specialites et protocoles :

En France, 5 specialites veterinaires contre les enterotoxemies sont disponibles pour les petits ruminants. [Petit 2005]

MILOXANR (LABORATOIRE MERIAL) :

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

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

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

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

COGLAVAXR (LABORATOIRE ceva) :

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

Le protocole de vaccination est identique à celui de MiloxanR.

Les précautions d'emploi pour MiloxanR sont applicables pour CoglavaxR.

COGLAMUNER (LABORATOIRE ceva) :

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

TASVAXR HUIT (LABORATOIRE schering plough) :

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

Le protocole de vaccination est identique aux précédents.

SERANAMIXR (LABORATOIRE ceva) :

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

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

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

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

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

Spécialité	Valences contre l'entérotoxémie	AMM	Protocole d'utilisation	Autres valences
Miloxan®	<i>C. perfringens</i> B <i>C. perfringens</i> C <i>C. perfringens</i> D <i>C. sordellii</i> <i>C. septicum</i>	Ovins, Caprins , Bovins	Primo : 2 injections de 2 mL à 4-6 semaines d'intervalle. Jeunes nés de mère non vaccinée : dès 15j Jeunes nés de mère vaccinée : dès 8 semaines Rappel : annuel Femelles gravides : 2-6 semaines avant mise bas	<i>C. novyi</i> <i>C. tetani</i> <i>C. chauvoei</i>
Coglavax®	<i>C. perfringens</i> A <i>C. perfringens</i> B <i>C. perfringens</i> C <i>C. perfringens</i> D <i>C. septicum</i>	Ovins, Caprins , Bovins, Lapins		<i>C. novyi</i> <i>C. tetani</i> <i>C. chauvoei</i> <i>C. tetani</i>
Coglamine®	<i>C. perfringens</i> A <i>C. perfringens</i> B <i>C. perfringens</i> C <i>C. perfringens</i> D	Ovins, Caprins , Bovins, Lapins, Porcins		<i>C. tetani</i> <i>C. chauvoei</i>
Tasvax®	<i>C. perfringens</i> B <i>C. perfringens</i> C <i>C. perfringens</i> D <i>C. septicum</i>	Ovins, Caprins , Bovins, Lapins		
Séranamix®	<i>C. perfringens</i> B <i>C. perfringens</i> C <i>C. perfringens</i> D <i>C. septicum</i>	Ovins, Caprins , Lapins	Primo : 2 injections de 5 mL à 21j d'intervalle en milieu sain, 48h d'intervalle en milieu contaminé. Rappel : 6 mois	<i>C. novyi</i> <i>C. tetani</i> <i>C. chauvoei</i>

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

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

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

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 Covexin™ 8</u>	Bovins Ovins
CSL Glanvac®	Ovins
Intervet Heptavac®	Porcins Ovins

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

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

II.7.2.3 Innocuite de la vaccination :

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

REACTION D'HYPERSENSIBILITE :

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 chevres gestantes et en début de lactation [Petit 2005].

REACTION AU LE SITE D'INJECTION :

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

Il existe une réaction inflammatoire de 2-3 cm de diamètre au niveau du site d'injection. On ne détecte pas de différence significative de l'inflammation, entre ovins et caprins le lendemain de la vaccination. Sur la période 7-14 jours post injection, les ovins réagissent davantage : inflammation plus étendue, sur un plus grand nombre d'individus. L'écart diminue après 28 jours [Green *et al.* 1987].

La réaction inflammatoire est encore palpable sur 53% des chevres 6 mois après. Pour cette raison, l'injection est pratiquée sur la nuque ou derrière les oreilles, de manière à préserver la carcasse. De plus, il est important de choisir un site d'injection loin des nœuds lymphatiques, afin d'éviter toute confusion avec une lymphadenite caseuse [Blackwell *et al.* 1983].

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

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

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 PRE-VACCINAL :

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

On connaît depuis longtemps l'existence d'une immunité naturelle à *C. perfringens* chez les ovins. Cette séroconversion est acquise progressivement grâce à la présence de *C. perfringens* et la sécrétion de toxines en faible quantité dans l'intestin des animaux sains [Daube 1992].

On considère que chez les ovins, le taux d'anticorps pré-vaccinal est supérieur de 17% à celui des caprins [Green *et al.* 1987]. Dans l'espèce caprine, la moitié des individus issus d'élevage indemne d'enterotoxémie 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 [Blackwell *et al.* 1983].

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

REPOSE ANTICORPS APRES 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 protégés, 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 [Blackwell *et al.* 1983]. Plus tard en 1998, les résultats suivants sont obtenus: les animaux présentant un taux supérieur à 2,45 UI/mL sont protégés à la fois contre les effets systémiques et digestifs, tandis que les animaux présentant un taux compris entre 0,22 et 1,52 UI/mL développent une légère diarrhée sans trouble systémique [Uzal et Kelly² 1998]. Toujours en 1998, les mêmes auteurs définissent arbitrairement une valeur protectrice de 0,25 UI/mL [Uzal *et al.* 1998].

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

Amplitude de la réponse anticorps :

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

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

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

Persistance du taux d'anticorps :

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

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

Intervalle entre les rappels :

Chez les ovins :

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

Une étude récente prouve que les ovins possèdent un titre anticorps suffisant pour assurer leur protection ($> 0,15$ UI/mL) jusqu'à 8 semaines après une première injection de vaccination. Un rappel de primo vaccination 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 [Bernath *et al.* 2004].

Chez les caprins :

Le titre en anticorps passe en deca du seuil de protection (0,25 UI/mL) entre la 4ème et la 6ème 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 effectuée à 4 ou 6 semaines post primo, l'immunité devient insuffisante dès la 14ème semaine. Il est donc recommandé d'effectuer un premier rappel 4 à 6 semaines après la première injection puis un second rappel environ 1 mois après. Le protocole se poursuit à raison d'un rappel tous les 3-4 mois [Uzal *et al.* 1998]. La vaccination contre l'enterotoxémie se révélerait alors coûteuse et chronophage pour les éleveurs et problématique sur le choix du site d'injection [Uzal et Kelly2 1998]

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

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'enterotoxémie, 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 systemiques de la maladie et non contre les dommages intestinaux et ceux causes par les autres toxines clostridiennes. La vaccination des chevres est remise en cause serieusement.

L'immunité de la muqueuse intestinale :

Chez les ruminants, la meilleure immunité de la muqueuse intestinale est obtenue par stimulation antigenique de la muqueuse elle-meme. L'immunisation par la voie parenterale obtient de moins bons resultats.

L'immunisation par voie parenterale stimule la production IgG1. Mais il est reconnu que l'immunité de la muqueuse est realisee par les IgA et que les IgE constituent une seconde ligne de defense. Les IgA luttent contre l'absorption des bacteries et des toxines en bloquant leur adhesion a la paroi intestinale. Leur action est double : elles protegent contre les effets deleteres des toxines sur la muqueuse intestinale et elles diminuent leur action systemique en limitant leur absorption dans l'organisme.

Lors d'un episode de la maladie, l'augmentation de la permeabilite de la paroi intestinale entraine une exsudation. Les IgE et les IgG contenues dans les fluides sortant neutralisent les toxines dans la lumiere intestinale.

Mais le role des IgE et des IgG dans la protection de la muqueuse intestinale n'est que secondaire car la muqueuse intestinale des ruminants ne secrete qu'un faible taux d'IgE. De plus, une etude sur des ovins montre que les IgG issue du plasma sanguin ne represente que 1/6eme des immunoglobulines prelevees dans la lumiere intestinale [Uzal et Kelly2 1998].

L'immunité serique :

Bien que le taux d'IgA dans la muqueuse intestinale soit independant du taux serique en IgG, il y aurait une correlation entre la protection contre les effets locaux de la toxine et la concentration en anticorps seriques. En effet, les animaux vaccines ne developpent pas la maladie ou presentent simplement des symptomes digestifs attenes. Les animaux non vaccines sont touches par des signes digestifs et systemiques [Uzal et Kelly2 1998].

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

L'efficacite de la vaccination est reconnue chez les ovins et douteuse chez les caprins. Il existe des variations specifiques de la reponse humorale post vaccinale. Non seulement, les ovins beneficent d'un taux d'anticorps pre vaccinal (potentiel immunitaire) superieur a celui des caprins, mais la reponse humorale post-vaccinale est aussi meilleure, avec un taux d'anticorps superieur de 30% a celui des caprins. Les chevres sont caracterisees par de fortes variabilites individuelles par rapport a la reponse vaccinale, leur seuil de protection n'est pas encore connu precisement et il semblerait qu'elles necessitent des rappels vaccinaux plus frequents que les ovins. Les raisons de ces differences entre ovins et caprins, et de la variabilite individuelle au sein de l'espece caprine ne sont pas determinees avec certitude. L'immunité de la muqueuse intestinale est l'une des principales pistes de reflexion.

CONCLUSION :

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

Si effectivement, *C. perfringens* type A est le principal agent d'enterotoxémie 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'enterotoxémie, 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. À 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 terme de génétique, les hypothèses sont aujourd'hui plus facilement explorables.

ENTEROTOXEMIE : COMPARAISON DES FORMES OVINES ET CAPRINES

RESUME :

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