

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université IBN-KHALDOUN- Tiaret

Faculté des Sciences Agronomiques et Vétérinaire

Département de sciences vétérinaires.



Projet de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de docteur vétérinaire

Thème :

L'entérototoxicité chez les ovins

Présenté par :

AZEB NOUR EL-HOUDA

Encadré par :

AKERMI AMAR

Année Universitaire : 2018.2019

Remerciement

Tout d'abord, je tiens à remercier le bon Dieu le tout puissant de m'avoir donnée la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.

Egalement je remercie infiniment mes parents, qui m'ont encouragé et aidé à arriver à ce stade de ma formation.

Mes grands remerciements vont à docteur AKERMI AMAR mon encadreur pour m'avoir guidé pour la réalisation de ce projet.

Je remercie aussi tous les enseignants de l'institut de sciences vétérinaires de Tiaret.

Enfin, je tiens à remercier tous ceux qui m'ont aidé et assisté durant mes études.

Dédicaces

A mon très cher père RABAH, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, Tu étais toujours là après de moi pour m'encourager et me guider avec tes précieux conseils. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'admiration que je porte au grand homme que vous êtes. Puisse Dieu le tout puissant, vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur.

A ma très chère mère, source de ma vie, d'amour et de tendresse qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier de moi. Puisse Dieu le tout puissant t'accorder meilleure santé et longue vie.

A mes sœurs FATIHA ; MIMI ; NADIA et mes frères ABD EL-WAHAB, HAMANI et WAHIB que Dieu vous garde et illumine vos chemins.

A tous mes nièces et mes neveux spécialement RABAH et NOUR EL-HOUDA.

A mes cousines FARIDA, FATIMA, NASSIMA.

A mes oncles et tantes ainsi que leurs épouses.

A mes meilleurs amis KHEIRA ; SAMIRA ; FATIHA ; FATIMA ; HADJER. ; SARA

Sommaire

LISTES DES FIGURES	1
LISTES DES TABLEAUX.....	2
INTRODUCTION	3

Chapitre 01

ETIOPATHOGENIE DE L'ENTEROTOXEMIE CHEZ LES OVINS ET LES CAPRINS

1. Les bactéries	4
1.1. Les agents responsables d'enterotoxemie chez les petits ruminants.....	4
1.1.1. Clostridium perfringens.....	4
a. Morphologie.....	4
b. L'habitat.....	5
c. Formes de résistance : les spores.....	5
d. Caractères biochimiques et culturaux.....	5
1.1.2. Clostridium sordellii.....	6
a. Morphologie	6
b. Habitat.....	7
c. Caractères biochimiques.....	7
1.2. Mode d'action	7
1.2.1. Lyse des tissus.....	7
1.2.2. Augmentation de la perméabilité intestinale.....	7
1.2.3. Intoxication.....	7
1.3. Sensibilité et résistance aux antibiotiques et détergents.....	8
1.3.1. Sensibilité et résistance aux antibiotiques.....	8
1.3.2. Sensibilité aux antiseptiques et désinfectants.....	9
1.1.4. Classification de Clostridium perfringens.	9
1.4.1. Classification en toxinotype.....	9
1.4.2. Classification génotypique	11
2. Les toxines	12
2.1. Les toxines de Clostridium perfringens.....	12
2.1.1. La toxine α	13
2.1.2. La toxine β 1.....	15
2.1.3. La toxine β 2.....	16
2.1.4. La toxine ϵ	17
2.1.5. La toxine ι	19
2.26. L'entérotoxine (CPE).....	21
2.2. Les toxines de Clostridium sordellii.....	22
2.2.1. Toxine létale LT.....	22
2.2.2. La toxine HT	22

Chapitre 02

EPIDEMIOLOGIE

1. Epidémiologie descriptive	25
1.1. Espèces sensibles et répartition géographique	25
1.2. Importance et prévalence en France	26
1.3. Forme épidémiologique	27
1.4. Catégories d'animaux atteints	27
2. Epidémiologie analytique	28
2.1. Sources.....	28
2.1.1. Les sols.....	28
2.1.2. Le tractus digestif des animaux.....	29
2.2. Contamination.....	29
2.2.1. Contamination par <i>c. perfringens</i>	29
2.2.2. Contamination par <i>c. sordelli</i> et <i>c. septicum</i>	30
2.3. Facteurs de risque	31
2.3.1. Facteurs extrinsèques.....	31
a. L'alimentation	31
b. Le stress, le péristaltisme et la sécrétion biliaire.....	33
c. Le climat et la saison.....	34
d. Utilisation d'antibiotiques.....	34
e. Le parasitisme.....	35
2.3.2. Facteurs intrinsèques	35
a. L'espèce.....	36
b. L'âge.....	36
c. La race et la conformation.....	36
2.4. Symptômes.....	37
2.4.1. Entérotoxémie à <i>Clostridium perfringens</i> de type A non entérotoxigène.....	37
2.4.2. Entérotoxémie à <i>Clostridium perfringens</i> de type B.....	38
2.4.3. Entérotoxémie à <i>Clostridium perfringens</i> de type C.....	38
2.4.4. Entérotoxémie à <i>Clostridium perfringens</i> de type D.....	39
2.4.5. Entérotoxémie à <i>Clostridium perfringens</i> de type E.....	40
2.4.6. Entérotoxémie à <i>Clostridium perfringens</i> de type A entérotoxigène	40
2.4.7. Entérotoxémie à <i>Clostridium sordellii</i>	40
2.5. Lésions.....	40
2.5.1. Aspect général.....	41
a. Aspect extérieur.....	41
b. Aspect interne	41
2.5.2. Les organes internes	42
a. L'appareil cardiorespiratoire.....	42
b. L'appareil digestif	43

Chapitre 03

DIAGNOSTIC

1. Prélèvements.....	49
1.1. Tractus et contenu digestif.....	49
1.2. Urine.....	50
1.3. Liquide péricardique.....	50
1.4. Tissus et autres sérosités.....	50
1.5. Sang.....	51
2. Méthodes diagnostique	51
2.1. Etude bactériologique	51
2.2. Le typage	54
2.3. L'identification directe par coloration des bactéries	54
2.4. Sérologie	55

Chapitre 04

MOYENS DE LUTTE

Prophylaxie.....	57
1. Prophylaxie sanitaire	57
2. Prophylaxie médicale	58
a. L'antibiothérapie	58
b. La sérothérapie.....	58
c. La vaccination	58
CONCLUSION.....	61
BIBLIOGRAPHIE.....	62

LISTES DES FIGURES

Figure 1 : Photographie de <i>Clostridium perfringens</i> observée au microscope optique (cliché de DUMARCHE) G×1000.....	4
Figure 2 : Photographie de <i>C. sordellii</i> observée au microscope optique (clichée DUMARCHE) G×1000.....	5
Figure 3 : Mécanismes d'action de la toxine ι de <i>C. perfringens</i>	20

LISTES DES TABLEAUX

Tableau 1 : Synthèse des propriétés biologiques des toxines de Clostridium perfringens	9
Tableau 2 : Production des différentes toxines létales majeures par les toxinotypes de Clostridium perfringens	12
Tableau 3 : Les différents génotypes en rapport avec les toxinotypes.....	23
Tableau 4 : Maladies associées aux divers toxinotypes (classification traditionnelle) de C. perfringens, espèces cibles, répartition.....	25
Tableau 5 : Synthèse des lésions caractéristiques observées à l'autopsie sur les ruminants morts d'entérotoxémie	48
Tableau 6: Présence et valeur diagnostique de Clostridium dans l'intestin des petits ruminants.....	53
Tableau 7 : Récapitulatif des principaux vaccins commercialisés pour la prophylaxie Sanitaire des entérotoxémies	60

INTRODUCTION

Les entérotoxémies sont des affections des ruminants dues à la pullulation dans l'intestin, de *Clostridium perfringens* avec production d'exotoxines protéiques létales. *Clostridium perfringens* est l'agent bactérien déterminant de la maladie. Cliniquement ces affections se caractérisent par une mort subite parfois précédée pendant quelques heures de troubles diarrhéiques, convulsifs et hémolytiques. L'autopsie révèle des lésions congestive hémorragiques disséminées dans l'intestin, des lésions exsudatives avec accumulation de liquide séro-hémorragique dans les grandes cavités séreuses et des lésions dégénératives des parenchymes (foie, rein et muscles) ; la putréfaction des cadavres étant particulièrement rapide.

C'est à partir de ces bases épidémiologiques et lésionnelles que s'appuie le diagnostic de suspicion d'entérotoxémie. Les analyses de laboratoire permettent ensuite de confirmer ou d'infirmer cette hypothèse.

CHAPITRE 01

LES AGENTS RESPONSABLE DE

L'ENTEROTOXEMIE

1. LES BACTERIES

1.1. Les agents responsables d'entérotoxémie chez les ovins et les caprins

Les bactéries responsables des entérotoxémies appartiennent majoritairement au genre *Clostridium* : *C. perfringens* est isolé le plus fréquemment [ABDEL SALAM I.S., EL SANOUSI S.M, 1991]. Il a été identifié comme l'agent étiologique principal dans 83% des cas d'entérotoxémies [BRONZID, 2002]. Toutefois, bien que *Clostridium perfringens* soit majoritairement décrit, des cas faisant intervenir d'autres clostridies sont relatés comme *Clostridium sordelli* responsable de mort brutale chez les bovins [COTTEREAU PH et al,1962].

1.1.1. *Clostridium perfringens*

a. Morphologie

Clostridium perfringens est un bacille immobile, Gram positif, de 4 μm sur 1,5 μm avec des bords parallèles et des extrémités arrondies. L'épaisseur de la capsule est variable en fonction des souches et peut être discernée par coloration à l'encre de Chine de façon aisée sur un prélèvement [VERON M, 1989]. Les bacilles sont généralement isolés, parfois groupés en paires [WALKER R, 2004].

Figure 1 : Photographie de *Clostridium perfringens* observée au microscope optique (cliché de DUMARCHE) G \times 1000



b. Habitat

Clostridium perfringens est une bactérie tellurique et ubiquitaire. Elle est présente le plus souvent en grand nombre dans l'environnement (sols, boues, poussières, litières) [LEFEVRE P.C, 2003].

Clostridium perfringens est commensale du tube digestif de l'homme et des animaux. Le dénombrement de la flore du tube digestif d'un animal sain indique la présence de cette bactérie à des concentrations inférieures à 10³ clostridies par millilitre de contenu intestinal. Cette concentration est similaire pour l'intestin grêle, le caecum et le colon.

Une altération de l'équilibre de la flore intestinale se traduit par une prolifération de *C.perfringens* pouvant atteindre des concentrations comprises entre 10⁶ à 10⁹ bactéries par millilitre de prélèvement [POPOFF M, 1989].

c. Caractères biochimiques et culturels

Il s'agit d'une bactérie anaérobie stricte, aérotoleante (sa croissance est possible en surface avec 5% d'oxygène en présence d'un catalyseur activé par H₂), déficiente en catalase et en peroxydase, produisant des endospores thermosensibles [DAUBE G et al, 1992]. Elle possède un fort potentiel de réduction du milieu. En effet, la production de divers métabolites et en particulier d'hydrogène, au cours de la phase de croissance, a un effet réducteur.

Sa température habituelle de croissance est comprise entre 34 et 37 °C, avec un optimum à 46°C. Cette température est utilisée lors de l'incubation pour +enrichir les cultures. Son développement est possible pour un pH compris entre 5 et 9 [VERON M, 1989 ;WALKER R, 2004].

Elle est saccharolytique et protéolytique, c'est-à-dire qu'elle détruit les carbohydrates et les protéines en différents composants dont quelques-uns sont toxiques [ENGLISH J.E, 1966].

Toutes les souches réduisent les sulfites en sulfures. Ce critère est utilisé pour dénombrer *C. perfringens* dans l'eau, le sol et les fèces (nous détaillerons l'importance de cette propriété dans le choix des milieux de cultures utilisés dans la partie expérimentale). Elle produit des gaz (dioxyde de carbone, dihydrogène) et des acides (acides acétique et butyrique) lors des fermentations de nombreux glucides, en particulier le glucose [VERON M, 1989 ;WALKER R, 2004].

d. Formes de résistance : les spores

Les spores de *Clostridium perfringens* sont ovales et thermo-résistantes. La sporulation permet à la bactérie de résister dans le milieu extérieur lorsque les conditions ne sont plus favorables à sa survie c'est à dire lors de modifications de pH et de température [ENGLISH J.E et al, 1966]. La formation de spores mûres thermo-résistantes sur des milieux de croissance usuels est généralement bloquée au stade II (formation de septum). Le déterminisme de la production de l'entérotoxine est codé par le même gène que celui de la sporulation. Ainsi, l'augmentation du taux d'entérotoxine est proportionnelle aux nombres de spores thermo-résistantes formées [VERON M, 1989]

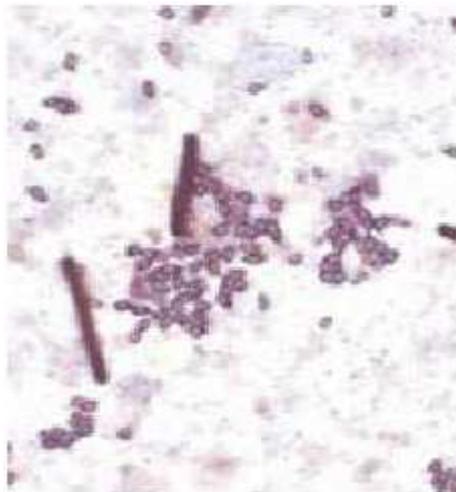
1.1.2. Clostridium sordellii

Clostridium sordellii est responsable de troubles digestifs pouvant être responsables d'entérotoxémie des ruminants [COTTEREAU PH et al, 1962].

a. Morphologie

C. sordellii mesure 1,6 µm de large pour 4,5 µm de long. Cette bactérie est mobile grâce à son flagelle. Elle produit des spores de morphologie ovale.

Figure 2 : Photographie de *C. sordellii* observée au microscope optique (cliché de DUMARCHE) G×1000



b. Habitat

Elle est présente dans l'environnement (sol) mais aussi dans l'intestin des animaux et de l'homme de manière commensale.

c. Caractères biochimiques

C'est un bacille anaérobie, positif à la coloration de Gram. Il possède une uréase, fermente le glucose, le lévulose et le maltose. Il produit deux toxines : une toxine létale (LT) et une toxine nécrosante (HT) [VERON M, 1989 ;WALKER R ,2004].

1.2. Mode d'action

1.2.1. Lyse des tissus

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

1.2.2. Augmentation de la perméabilité intestinale

Certaines souches de Clostridium, dont celles responsables d'entérotoxémie, sécrètent une entérotoxine, thermolabile. Libérée dans la lumière intestinale, elle agit en augmentant la perméabilité intestinale, favorisant ainsi l'entrée des bactéries et des toxines dans l'organisme.

1.2.3. Intoxinaton

Suite aux destructions cellulaires et à l'augmentation de la perméabilité de la paroi intestinale, les toxines clostridiennes (puis les bactéries) sont à même de pénétrer dans l'organisme. Elles vont agir à un site cellulaire précis, différent pour chaque bactérie toxigène. Les toxines étant les principaux facteurs de virulence, leur concentration est étroitement corrélée à l'intensité du syndrome entérotoxémique et à la sévérité des lésions. La quantité de toxine libérée est proportionnelle à la multiplication bactérienne.

1.3. Sensibilité et résistance aux antibiotiques et détergents

1.3.1. Sensibilité et résistance aux antibiotiques

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

➤ LES BÉTA LACTAMINES

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

➤ RÉSISTANCE AUX MACROLIDES, LINCOSAMIDES

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

➤ RÉSISTANCE AUX TÉTRACYCLINES

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

➤ **R ÉSISTANCE AU CHLORAMPHÉNICOL**

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

➤ **S ENSIBILITÉ AUX AUTRES ANTIBIOTIQUES**

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

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

1.3.2. 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.

1.4. Classification de clostridium perfringens

1.4.1. Classification en toxinotypes

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

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

Deux autres toxines majeures existent, l'entérotoxine et la toxine β_2 , chez *C. perfringens* et ne sont donc pas utilisées pour le typage.

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

Tableau 1 : Principales maladies dues à *C. perfringens* chez les ovins et les caprins : classification toxingénique

C. perfringens type	Toxines majeures				Ovins	Caprins
	A	P	£	L		
A (1)	++	-	-	-	Maladie de l'agneau Jaune	Entérotoxémie
B (1 et 2)	+	++	+	-	Dysenterie de l'agneau	Entérite hémorragique
C (1 et 2)	+	++	-	-	Entérite hémorragique (jeune) Struck (adulte)	Entérite hémorragique
D	+	-	++	-	Maladie du rein pulpeux	
E	+	-	-	++	Entérotoxémie	Entérotoxémie

++ Principale toxine produite

+ Toxine secondaire, en général produite en quantité moindre.

1.4.2. La classification génotypique

Une nouvelle classification a été proposée, se basant sur la capacité génétique d'une souche à produire une toxine. Elle utilise la mise en évidence des gènes codant pour les toxines par la technique PCR (Polymerase Chain Reaction). Les éléments extra chromosomiques sont mobiles et souvent instables, entraînant une grande variabilité des

souches. En effet, la toxine α et l'entérotoxine sont codées par des gènes chromosomiques, tandis que les gènes des autres toxines sont portés par des plasmides.

La définition des souches par cette classification est plus indicatrice de leur potentiel de virulence que la précédente. En particulier, elle est plus appropriée pour l'identification des souches porteuses du gène cpe codant pour l'entérotoxine étant donnée sa production réduite à partir des milieux de culture usuels. La classification génotypique, en mettant en évidence les gènes des toxines produites par les différentes souches de *Clostridium perfringens*, est plus précise que la classification phénotypique. Cependant, cette classification a des limites : la présence d'un gène ne signifie pas forcément l'expression de la toxine, comme le gène cpe silencieux de l'entérotoxine lors de son association avec le gène de la toxine ι [BILLINGTON S.J et al , 1998]

Tableau 2 : Les différents génotypes en rapport avec les toxinotypes [PETIT L, 1999]

Classification toxinotypique	Les génotypes
A	plc plc, cpe plc, cpb2 plc, cpe, cpb2
B	plc, cpb1, etx plc, cpb1, etx, cpe
C	plc, cpb1 plc, cpb2 plc, cpb1, cpe plc, cpb2, cpe plc, cpb1, cpb2 plc, cpb1, cpb2, cpe
D	plc, etx plc, etx, cpe
E	plc, iap plc, iap, ibp plc,

2. LES TOXINES

2.1. Les toxines de clostridium perfringens

Selon la littérature, 17 toxines produites par *C. perfringens* ont été décrites mais quelques-unes seulement ont un rôle pathogène [SONGER J.G, 1996].

Sur le terrain, les entérotoxémies sont liées à la prolifération d'un mélange de différentes toxines lors de la pullulation de *C. perfringens* dans l'intestin.

Parmi ces toxines, quatre exotoxines protéiques et une endotoxine ont une activité létale faisant d'elles les toxines majeures pour le typage des bactéries. Les différentes souches de *C. perfringens* sont réparties en cinq types, classées en fonction des différentes productions de toxines : type A, B, C, D et E [LEFEVRE P.C, 2003 ; WALKER R, 2004].

Actuellement, on s'oriente vers une classification génotypique qui prend en considération toutes les toxines produites par la souche lors de la maladie observée parmi ces six toxines létales majeures (α , β_1 , β_2 , ϵ , ι et CPE). L'activité biologique des toxines protéiques élaborées est à l'origine de lésions découvertes à l'autopsie. Néanmoins, nous n'observons pas de tableaux lésionnels spécifiques en fonction de la production de toxines et du type de *C.perfringens* identifié [DAUBE G, 1992].

Il existe des toxines mineures qui potentialisent l'action des toxines majeures ; ce sont en général des enzymes hydrolytiques (protéases, hémolysines) qui jouent un rôle mineur dans la pathologie [POPOFF M, 1989]. Elles sont désignées par des lettres grecques : eta, kappa, theta, gamma, lambda, nu, delta et mu (η , κ , θ , γ , λ , ν , δ , μ)

Clostridium sordelli, identifié dans des cas suspects d'entérotoxémie, produit deux toxines, une entérotoxine (HT) et une toxine létale (LT) [VAIKOSEN E.S et al, 2005].

Chaque toxine est élaborée à partir d'un gène porté par le chromosome ou un plasmide. La découverte des différents gènes codants est utile aux nouvelles techniques de laboratoire basées sur l'identification des toxines produites en fonction des gènes identifiés.

2.1.1. La toxine α

Ce fut la première toxine bactérienne dont l'activité enzymatique fut découverte en 1940 [TITBALL R.W, 1999]. Il s'agit d'une lécithinase (ou phospholipase de type C) et d'une sphingomyélinase hydrolysant la phosphatidyl-choline, la lécithine, les phospholipides et la sphingomyéline . Elle possède une activité hémolytique, nécrosante et létale. La toxine α est sécrétée par tous les types de *Clostridium perfringens* et synthétisée en phase de 25 croissances exponentielles [SMITH B.P et al, 1996].

a. Structure

Cette protéine possède un poids moléculaire de 50 kDa (Dalton). Sa fabrication est établie à partir d'un peptide signal. Elle se compose de 370 acides aminés et possède deux domaines ; l'un est constitué d'une hélice α en partie N-terminale, portion active de la toxine, l'autre est formée d'un feuillet β , en partie C-terminale, impliquée dans la fixation membranaire. Il s'agit d'une métalloenzyme constituée d'ions Zn^{2+} et Ca^{2+} . Ces ions sont indispensables pour son activité biologique, le zinc intervenant dans l'activité enzymatique et le calcium dans la fixation membranaire [TITBALL R.W, 1999].

b. Gène codant

Le gène cpa (encore appelé plc) est à l'origine de cette toxine. Il est situé sur le chromosome près de l'origine de réplication et d'initiation [DAUBE G, 1996 ;SONGER J.G1996]. Sa séquence, constante dans toutes les souches identifiées, permet par conséquent de l'utiliser comme marqueur génétique de l'espèce [PETIT L, 1999].

c. Activité biologique

Son rôle consiste en une déstabilisation des membranes cellulaires. Le diacylglycérol, produit de l'hydrolyse de la lécithine par la toxine α , active la protéine kinase conduisant à l'activation des phospholipases C et D des cellules eucaryotes et à une cascade de réactions dues à l'acide arachidonique. Elles engendrent la synthèse et l'attraction des molécules de l'inflammation comme les leucotriènes, les thromboxanes et les facteurs d'activation des plaquettes. Ces réactions entraînent la contraction des vaisseaux sanguins, une augmentation de la perméabilité, l'agrégation plaquettaire et un dysfonctionnement des muscles (myocarde). Son activité biologique se traduit par la lyse membranaire des cellules cibles comme les leucocytes ou les entérocytes. Des expérimentations ont permis de mettre en évidence ces effets pathogènes par injection intraveineuse ou intrapéritonéale de cette toxine [BUNTING M, 1997 ; TITBALL R.W, 1999]

La toxine α possède une action hémolytique. Ceci la différencie des phospholipases A dont l'action hémolytique s'effectue à partir de produits hémolytiques [VERON M, 1989]. Néanmoins ces produits interviennent dans l'activation de multiples réactions altérant le métabolisme cellulaire conduisant à la déstabilisation des cellules [BUNTING M, 1997]. Elle modifie la perméabilité des endothéliums et provoque la nécrose des villosités intestinales [SMITH B.P, 1996]. Des études menées par SONGER tendent à montrer que l'infime différence de la séquence en acides aminés de la toxine α , entre les toxi-infections gangréneuse et les entérotoxémies, confère à cette dernière une résistance particulière vis-à-vis de la chymotrypsine permettant son accumulation dans l'intestin [SONGER J.G, 1996].

Son rôle pathogène est discuté dans les entérotoxémies même si sa présence est presque systématique dans les prélèvements du tractus gastro-intestinal, en particulier chez les bovins (90 à 95% des prélèvements) [LEFEVRE P.C, 2003 ;MANTECA CH, 1994]. Différentes études par GKIOURTZIDIS ont montré que l'action de la toxine α est incertaine voire inexistante chez l'espèce ovine [GKIOURTZIDIS K, 2001]. In vivo, l'action de la toxine α a été mise en évidence exclusivement sur des volailles.

2.1.2. La toxine β 1

Cette toxine, anciennement appelée toxine β , a été renommée depuis la découverte récente de la toxine β 2 [PETIT L, 1999].

La toxine β 1 est une toxine nécrosante, létale, thermolabile et sensible à l'action des enzymes protéolytiques. Elle est sécrétée en phase de croissance exponentielle des bactéries dans l'intestin et entraîne la nécrose de la muqueuse intestinale surtout chez les nouveaux-nés [GKIOURTZIDIS K, 2001 ;LEFEVRE P.C, 2003].

a. Structure

Cette protéine est constituée de 336 acides aminés, de poids moléculaire de 38 kDa. Elle possède de nombreuses similitudes avec la toxine α de *Staphylococcus aureus*, la toxine γ et la leucocidine [GIBERT M, 1997 ; SONGER J.G, 1996].

b. Gène codant

Le gène *cpb1*, à l'origine de l'élaboration de cette toxine, réside sur un élément extra chromosomique, un plasmide instable lors de culture de bactéries sur gélose au sang à 37°C sous anaérobiose [GIBERT M et al, 1997]. Les raisons de cette instabilité ne sont pas encore élucidées [BUOGO C, 1995].

c. Activité biologique

La toxine élabore des pores transmembranaires, provoquant des dommages sur les cellules cibles (cellules de l'épithélium intestinal, de l'endothélium). La toxine β 1 atteint préférentiellement l'intestin, le cœur, les vaisseaux sanguins et les ganglions lymphatiques. Elle affecte les tissus nerveux en modifiant les transports ioniques à travers la membrane des cellules et provoque une fuite de potassium avec passage intracellulaire de Cl^- , Na^+ et de Ca^{2+} modifiant la polarisation membranaire [WALKER R. L, 2004].

Elle possède une activité dermonécrosante. En effet, une quantité de 2 ng de la toxine est suffisante pour provoquer des lésions dermonécrosantes, alors que la dose létale à 50% sur des souris est de 500 ng/kg.

La toxine β 1 est rapidement inactivée par la trypsine dans l'intestin expliquant l'atteinte préférentiel de cette toxine pour les nouveaux-nés. Elle est due à une diminution de l'activité des enzymes protéolytiques liée à la diminution des sécrétions pancréatiques durant

une courte période post natale ou suite à l'ingestion d'inhibiteur des protéases (trypsine) contenues dans le colostrum [DAUBE G, 1992 ;SONGER J.G, 1996].

2.1.3. La toxine β 2

La toxine β 2 a été récemment décrite mais son rôle pathogène n'est pas encore clairement identifié. Elle a été isolée sur une souche provoquant une entérite nécrotique mortelle chez le porcelet. Des études récentes ont permis de classer cette toxine dans les différents toxinotypes décrits dans la littérature [GRECO G et al, 2005].

a. Structure

Il s'agit d'une protéine de 27,4 kDa avec un peptide signal de 30 acides aminés en position N-terminale. La séquence de la toxine β 2 n'a pas beaucoup d'homologie avec celle de la toxine β 1 (15%) et un très faible niveau de similitude immunologique [GIBERT M, 1997].

b. Gène codant

Le gène *cpb2*, codant pour la toxine β 2, est porté par un plasmide instable, sans aucune relation avec le gène de la toxine β 1. Cette instabilité est liée à une faible tolérance à l'oxygène ambiant et à une sensibilité aux températures extrêmes, conduisant à sa perte au bout d'une heure en aérobiose. La particularité de l'identification de ce gène *cpb2*, difficile à isoler, explique sa découverte tardive [GIBERT M et al, 1997].

c. Action biologique

Son pouvoir pathogène est identique à la toxine β 1. Des pores transmembranaires sont formés dont le mécanisme d'action reste encore indéterminé. La toxine β 2 a souvent été isolée sur des contenus intestinaux d'entérite nécrotique chez le porc, des entérocolites chez le cheval et des diarrhées chez le chien [WALKER R. L, 2004]. Les lésions observées sont une nécrose et des hémorragies de l'intestin grêle. D'autres organes sont affectés par cette toxine : le cœur, les vaisseaux, la vésicule biliaire et les muscles lisses [GIBERT M, 1997 ;MANTECA C, 2002].

Elle est isolée sur des animaux sains ou malades, souvent en association avec la toxine α . Des auteurs présument qu'une synergie s'élabore entre la toxine β 2 et la toxine α ou la toxine ϵ [GRECO G, 2005 ;MANTECA C, 2002].

La toxine β_2 est désactivée par la trypsine, elle est clivée en fragments de 13 et de 15 kDa entraînant ainsi une perte totale de son activité cytotoxique. Du fait de cette sensibilité à cette enzyme, on retrouve la même prédisposition pour les nouveaux-nés que la toxine β_1 [GIBERT M, 1997].

2.1.4. La toxine ϵ

La toxine ϵ est produite par *Clostridium perfringens* en particulier dans les toxinotypes B et D décrits dans la littérature [VERON M, 1989 ;WALKER R, 2004]. Elle est dermonécrosante, oedématiante et létale mais non hémolytique. Elle est souvent présente lors d'entérotoxémies des petits ruminants et plus rarement chez les bovins [DAUBE G, 1992].

a. Structure

La toxine ϵ est constituée de 331 acides aminés avec un poids moléculaire de 32,7 kDa [MIYAKAWA F, 2003]. Elle est produite sous une forme inactive, protoxine thermostable, et devient active suite à l'action d'enzymes protéolytiques (la trypsine, chymotrypsine et zinc métalloprotéase) qui clivent un peptide de 13 acides aminés en portion N-terminale [FREY J, et al, 2003].

b. Gène codant

Le gène *etx*, codant pour la toxine ϵ , est porté par un plasmide transférable horizontalement d'une souche à une autre et différent de celui des toxines β_1 et β_2 [FREY J, et al, 2003].

c. Activité biologique

Il s'agit d'une perméase affectant les cellules du cytosquelette ce qui implique une augmentation de la perméabilité des cellules épithéliales et endothéliales (particulièrement au niveau du cerveau) [WALKER R, 2004].

Le pouvoir toxique de la protoxine ϵ se multiplie par 100 voire 1000 suite à sa fragmentation enzymatique [JOUBERT L, 1967]. Elle agit en augmentant la perméabilité de la paroi intestinale altérant sa fonction d'absorption [LEFEVRE P.C, 2003 ;MIYAKAWA F.M.E, 2003].La toxine augmente la perméabilité et produit des dommages sur l'endothélium vasculaire, amenant à une perte de fluide et l'apparition d'œdème notamment du poumon, cœur, reins et cerveau [LEFEVRE P.C, 2003 ;WALKER R, 2004].

L'action de la toxine ϵ , sur l'intestin, est moins importante que la toxine β , mais suffisante pour permettre sa diffusion par voie générale. Cette dissémination dans l'organisme facilite sa fixation aux récepteurs des endothéliums vasculaires (surtout dans le cerveau), des cellules de l'anse de Henlé et des sinusoides hépatiques [DAUBE G, 1992].

Des études, menées par MIYAKAWA et UZAL, ont permis d'élucider le mécanisme d'action de la toxine ϵ , grâce à des injections de toxine dans des anses ligaturées d'intestins d'ovins et de caprins, évoluant en quelques heures vers une accumulation de liquide intraluminal. En effet, elle agit en altérant les mécanismes de transports des ions et de l'eau de la paroi de l'intestin, contribuant à une modification des échanges permis avec les cellules endothéliales. La rétention d'ions et d'eau dans l'intestin est plus rapide et importante chez les caprins que chez les ovins [MIYAKAWA F.M.E, 2003 ;MORGAN K.T, 1975].La meilleure absorption de la toxine ϵ chez les ovins par rapport aux caprins explique les sites différents d'activité entre les espèces [MIYAKAWA F.M.E, 2003 ;ESPINASSE J, 1980].

La production post-mortem et la destruction intestinale de la toxine diminue la sensibilité et la spécificité des méthodes de détection de laboratoire de cette toxine en vue d'un diagnostic d'entérotoxémie [UZAL F.A, 2004].

2.1.5. La toxine ι

La toxine ι est produite sous forme inactive par *Clostridium perfringens* souvent décrite dans le toxinotype E. Son implication dans les entérotoxémies est faible. Chez la souris, elle est reconnue pour son activité nécrosante et létale [POPOFF M, 1998 ; WALKER R. L, 2004].

a. Structure

Il s'agit d'une toxine binaire, sécrétée sous forme inactive et activée par des enzymes protéolytiques [POPOFF M, 1998 ; WALKER R. L, 2004]. La modification des onze derniers acides aminés du côté N-terminal active la toxine. Elle est constituée de deux facteurs protéiques distincts (deux chaînes polypeptidiques), identifiés sous le nom de Ia et Ib, non reliés ni par liaison covalente ni par pont disulfure. Le composant Ib, de 98 kDa, est le composant permettant la reconnaissance d'une protéine membranaire par sa portion C-terminale. Le composant Ia, de 45 kDa, est porteur de l'activité enzymatique de la toxine par sa portion N-terminale. L'association des deux composants est nécessaire pour assurer l'activité biologique de la toxine [POPOFFM, 1989].

b. Gène codant

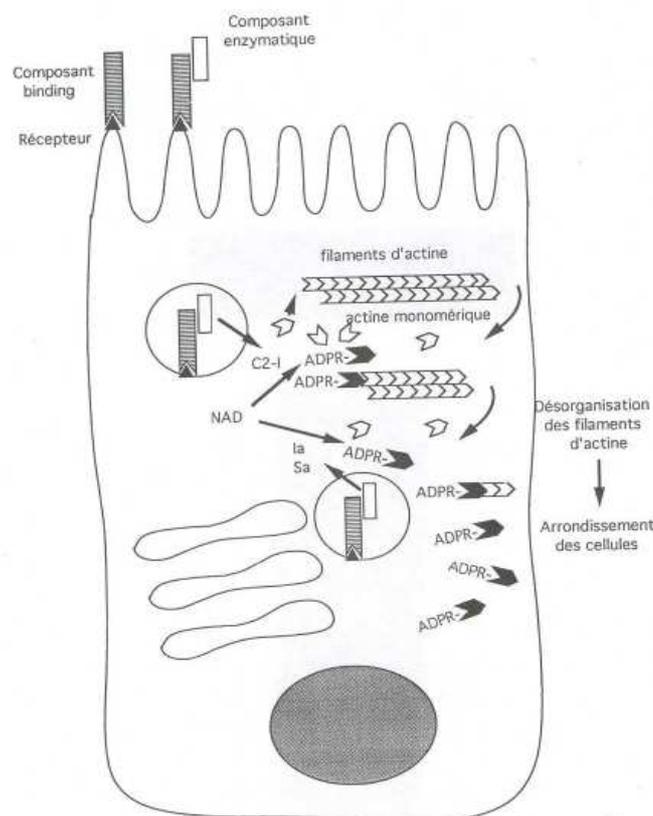
Les gènes *iap* et *ibp* sont organisés en un opéron sur un plasmide. Les deux molécules sont produites sous l'action d'un peptide signal [FREY J, 2003].

c. Activité biologique

Son activité enzymatique, celle d'une ADP-ribosyltransférase conférée par sa partie Ia résulte dans la fixation d'une molécule de NADPH ou de NADH qui permet la réaction d'ADP-ribosylation des monomères d'actines, aboutissant à la dépolymérisation des filaments d'actine [DAUBE G, 1992 ; WALKER R. L, 2004].

Ib reconnaît les récepteurs cellulaires et permet l'entrée de Ia dans le cytoplasme suite à la formation de pores transmembranaires [LEFEVRE R et al, 2003].

Figure 3 : Mécanismes d'action de la toxine ι de *C. perfringens* [POPOFF M.R 1996]



Cette activité enzymatique s'exprime de différentes façons : destruction des membranes 30 cellulaires (lécithinase), arrêt de la physiologie cellulaire de façon irréversible (synthèse protéique) et perturbation de la physiologie cellulaire par interaction avec les systèmes régulateurs (AMP cyclique) [FREY J, 2003].

La dépolarisation du cytosquelette d'actine entraîne une désorganisation des jonctions serrées des cellules, conduisant à une augmentation de la perméabilité des cellules de la muqueuse intestinale. Cette modification de la perméabilité est à l'origine d'œdèmes et de suffusions.

2.1.6. L'entérotoxine (CPE)

L'entérotoxine (CPE) est produite lors de la sporulation de *C. perfringens* [DAUBE G, 1992 ; WALKER R.L, 2004] suite à la lyse de la cellule, à la différence des autres toxines sécrétées en phase de croissance exponentielle [DAUBE G, 1992].

a. Structure

Il s'agit d'un polypeptide constitué d'une chaîne de poids moléculaire de 35 kDa, thermolabile et libéré dans l'organisme lors de la lyse de la cellule végétative. L'activation de la toxine nécessite l'action d'enzymes protéolytiques malgré sa grande résistance à la plupart des enzymes digestives [DAUBE G et al, 1992].

b. Gène codant

Le gène *cpe*, codant pour l'entérotoxine, est localisé sur un locus du chromosome mais de récentes études ont montré sa présence extra chromosomique (plasmide) associée à un élément génétique mobile [SONGER J.G, 1996].

Lors de cas d'entérite hémorragique de veaux, la technique PCR (Polymerase Chain Reaction) a permis d'isoler le gène *cpe* de l'entérotoxine en association avec les toxines des souches décrites dans le toxinotype E (α et ι). Le gène *cpe*, codant pour l'entérotoxine, est en continuité du gène de la toxine ι mais ne s'exprime pas lors de la sporulation, on parle de séquence *cpe* silence. L'origine de cette expression silencieuse s'explique par l'existence de mutations de la séquence, d'un manque de codon initiateur et promoteur [BILLINGTON S.J, 1998 ; SONGER J. G, 2004].

c. Activité biologique

Son activité biologique induit une accumulation de liquide dans l'intestin de la plupart des espèces [DAUBE G, 1992].

Son mécanisme d'action moléculaire fait intervenir la reconnaissance d'un récepteur sur la membrane à bordure en brosse de l'intestin [POPOFF M.R, 1996]. Le domaine N-terminal est le site cytotoxique tandis que le domaine C-terminal est responsable de l'activité

par la reconnaissance de récepteurs. L'entérotoxine s'insère dans la membrane cytoplasmique et s'associe à une autre protéine pour former des complexes de grande taille. Son action entraîne la formation de pores conduisant à une altération de la perméabilité des membranes, une inhibition de la synthèse des macromolécules, une désintégration du cytosquelette et une lyse de la cellule.

La réponse cytotoxique de l'entérotoxine est rapide de l'ordre de 20 à 30 minutes [SONGER J.G et al, 1996]. *C. perfringens* produit de nombreuses toxines dont l'activité biologique de chacune varie en fonction du gène codant pour ces protéines.

2.2. Les toxines de *Clostridium Sordelli*

2.2.1. Toxine létale LT

Cette protéine s'est révélée érythémateuse et oedémateuse par injection intradermique chez le cobaye ou en intrapéritonéale chez le porc de guinée, létale chez la souris et cytotoxique pour les cellules Véro. Elle provoque une accumulation de liquide non hémorragique dans les anses intestinales ligaturées. Elle est responsable d'œdème et d'hémorragies. Elle est produite pendant la phase de croissance des bactéries.

Les groupes thiols qui sont protégés par des ponts disulfures semblent être essentiels dans l'activité létale [AL-MASHAT R.R et al, 1983].

2.2.2. La toxine HT

Elle est produite par *Clostridium sordellii*. C'est une toxine de 300000 daltons de poids moléculaire, cytotoxique pour les cellules. Elle entraîne une accumulation de liquides hémorragiques dans les anses iléales, qui a été démontré expérimentalement chez le lapin. Son activité biologique est semblable à celle de la toxine A de *Clostridium difficile* [AL-MASHAT R.R, 1993 ; MARTINEZ R.D, 1998].

Tableau 3: Synthèse des propriétés biologiques des toxines de Clostridium perfringens
[DAUBE G, 1992 ; PETIT L, 1999]

Toxine	Gène	Localisation génétique	Mode d'action	Effet pathogène	Organes cibles
A	cpa ou plc	Chromosome	Phospholipase C, sphingomyelinase, dégénérescence membranaire (détruite par trypsine)	Cytolytique, hémolytique, dermonécrosante et létale	Tous les organes
β 1	cpb 1	Plasmide	Formation de pores, altération des membranes cellulaires (détruite par trypsine)	Cytolytique, dermonécrosante, létale et nécrose hémorragique de la muqueuse intestinale	Intestins, cœur, vaisseaux, ganglions lymphatiques
β 2	cpb 2	Plasmide	Formation de pores, altération des membranes cellulaires	Cytolytique, létale et nécrose hémorragique de la muqueuse intestinale	Intestins, cœur, vaisseaux, muscles lisses, vésicule biliaire
ε	etx	Plasmide	Formation de pores, altération de la perméabilité des membranes cellulaires (activée par trypsine)	Œdème, dermonécrosante et létale	Intestins, poumons, cerveaux, cœur, foie, reins et vaisseaux sanguins
ι (Ia)	iap	Plasmide	ADP-ribosylation de l'actine (activée par trypsine)	Désorganisation du cytosquelette de l'intégrité des barrières cellulaires, dermonécrosante et létale	Intestins, cerveau et vaisseaux sanguins
ι (Ib)	ibp	Plasmide	Composant de fixation		
Entéro - toxine	cpe	Chromosome/ plasmide	Formation de pores (résistante à la trypsine)	Cytotoxique, érythémateuse, létale et fuites d'eau et des électrolytes	Intestins

CHAPITRE 02

EPIDIMIOLOGIE

1. EPIDEMIOLOGIE DESCRIPTIVE

1.1. Espèces sensibles et répartition géographique

C. perfringens est une espèce bactérienne présente dans le tube digestif de toutes les espèces animales et de l'Homme. Sa répartition est mondiale. Certains toxinotypes ont des spécificités géographiques ou d'hôte (Tableau 4).

Tableau 4 : Maladies associées aux divers toxinotypes (classification traditionnelle) de *C. perfringens*, espèces cibles, répartition [DAUBE 1992]

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

Chez les caprins, *C. perfringens* A et D sont les plus souvent incriminés lors d'entérotoxémie. Les autres types ont été cependant signalés : *C. perfringens* B en Iran et *C. perfringens* C en Angleterre et aux Etats-Unis [CHRTIER, 1995].

Les ovins sont sensibles a davantage de toxinotypes différents, mais les toxinotypes A et D demeurent les plus fréquents [SONGER, 1998].

1.2. IMPORTANCE ET PREVALENCE EN FRANCE

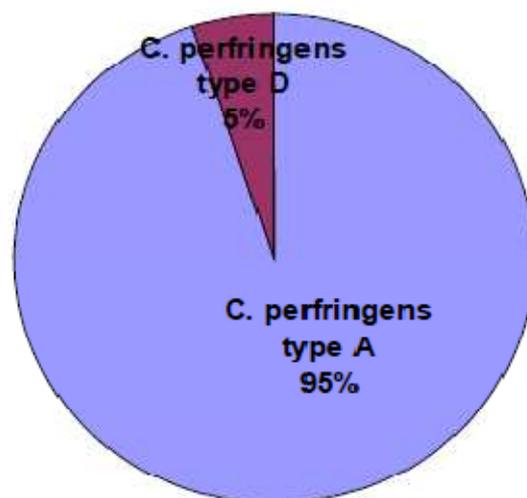
L'importance de la maladie est tout d'abord médicale, car l'issue est souvent fatale. Elle est aussi économique car elle occasionne des pertes d'effectif et des chutes de production.

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

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

Chez les 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) : *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].



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

du 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].

1.3. FORME EPIDEMIOLOGIQUE

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

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

1.4. CATEGORIES D'ANIMAUX ATTEINTS

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

l'entérotoxémie frappe davantage les agneaux à l'engraissement. Pour la chèvre, l'affection est plus fréquente chez l'animal adulte en production [CHARTIER et BROUKA, 1995].

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

L'entérotoxémie due à *C. perfringens* type A sévit davantage chez les adultes, les types B et C apparaissent essentiellement chez les nouveau-nés et le type D concerne tous les âges.

C. sordellii et *C. septicum* étant rare, ils n'ont été que peu observés. *C. sordellii* apparaît à tout âge [Popoff 1989 et 1994]. Les agents étiologiques majeurs d'entérotoxémie sont les mêmes chez les ovins et les caprins. En France, *C. perfringens* type A est le plus souvent incriminé, suivi de *C. perfringens* type D. *C. perfringens* type D semble plus fréquent chez les caprins. Mais les données de terrain recueillies en France ne s'accordent pas avec les données bibliographiques internationales. Étant donné l'engouement scientifique pour *C. perfringens* type D dans les autres pays, il semblerait qu'il soit le principal agent étiologique d'entérotoxémie chez les ovins et les caprins en dehors de l'Europe. *C. sordellii* apparaît dans 15% des cas d'entérotoxémie, mais sa virulence est discutée.

Elle semble écartée chez les ovins en France. Des études supplémentaires sont nécessaires pour préciser la pathogénicité de cette bactérie chez les caprins. La forme épidémiologique de la maladie diffère selon l'espèce. L'entérotoxémie ovine touche essentiellement les agneaux à l'engrais. La forme caprine sévit plutôt dans les élevages laitiers intensifs. L'âge est un paramètre important qui détermine le principal agent étiologique. La maladie se présente classiquement sous la forme de flambées épizootiques ou de cas sporadiques. Une forme chronique existe chez les caprins.

2. EPIDEMIOLOGIE ANALYTIQUE

2.1. SOURCES

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

2.1.1 Les sols

Les sols souillés par les matières fécales peuvent contenir 10⁴ UFC/g [DUCHSNES et al, 2005]. Cette valeur sous-estime probablement la charge réelle en bactérie, car le nombre de

spore est souvent supérieur aux UFC. Les clostridies sporules survivent de longues périodes dans les sols et l'environnement.

2.1.2 Le tractus digestif des animaux

➤ C HEZ LES ANIMAUX NOUVEAU NES

A la naissance, le tractus digestif stérile est colonisé, chez la plupart des espèces animales, primitivement par *Escherichia coli*, *C. perfringens* type A et *Streptococcus*. Ces bactéries pénètrent par voie orale, lors des tétées (mamelle souillée) ou du léchage d'objets. Elles constituent la flore intestinale avant d'être remplacées par une microflore à métabolisme lactique (lactobacilles, *Bifidobacterium*). Une étude chez les jeunes veaux montre que la population de *C. perfringens* est insignifiante dans la caillette, le duodénum et le jéjunum (<10³ UFC/g), elle est sensiblement plus élevée dans l'iléon (10⁴-10⁵ UFC/g) et peut être importante dans le caecum et les segments postérieurs (>10⁸ UFC/g). Par la suite, la flore intestinale croît et le nombre de germes anaérobies se stabilise entre 10¹⁰ et 10¹¹ bactéries par gramme de contenu intestinal [Popoff 1989].

➤ C HEZ LES ANIMAUX ADULTES

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

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

2.2. CONTAMINATION

2.2.1 Contamination par *C. perfringens*

➤ C HEZ LE NOUVEAU NE

La contamination orale par un *Clostridium* toxigène dans les premières heures de vie peut permettre une colonisation à un niveau élevé du tube digestif par celui-ci du fait de l'absence totale ou partielle des effets répressifs de la flore digestive. La bactérie se

multiplie jusqu'à 109 UFC/g. *C. perfringens* types B et C se rencontrent dans le cadre d'une entérotoxémie chez les animaux de moins de 3 jours [NIILO, 1988 ; POPOFF, 1989].

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

➤ **C CHEZ LE JEUNE ET L'ADULTE**

L'analyse génétique de souches pathogènes de *C. perfringens* type A chez des veaux malades a prouvé qu'elles étaient résidentes du tube digestif, et non des souches spécifiques d'entérotoxémie, particulièrement pathogènes et venues de l'extérieur [MANTECA et al, 2003]. Il a été également prouvé que la simple ingestion de *Clostridium* ne permettait pas le développement de la maladie car 90% de ces micro-organismes étaient détruits dans le rumen ou la caillette, et ne peuvent atteindre le duodénum [UZAL, 1998]. Ces 2 exemples confortent l'hypothèse que le développement de l'entérotoxémie est dû à la prolifération de clostridies déjà présents dans le tractus digestif et non à la contamination brutale par des germes présents dans l'environnement des animaux.

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

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

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

Clostridium perfringens est une bactérie commensale de l'intestin, mais elle n'est pas présente chez tous les individus. Les jeunes animaux se contaminent primitivement par ingestion de bactéries lors des tétées sur des surfaces souillées par les fèces des adultes, ou de spores persistant dans l'environnement. Il existe aussi une contamination orale, faible et constante des adultes. La population clostridienne dans le tractus digestif est insignifiante car

inhibée par les autres bactéries digestives. *C. perfringens* type A est plus fréquent que le type D. Les types B et C, ainsi que *C. sordellii* et *C. septicum* semblent absents chez les animaux sains.

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

2.3. Facteurs de risque

2.3.1. Facteurs extrinsèques

Nous avons montré précédemment qu'une perturbation de l'équilibre de la flore intestinale associée à une atonie digestive conduit à la multiplication des clostridies et à la production de toxines. Les causes favorisantes, principalement l'alimentation, apparaissent véritablement déterminantes dans le développement des entérotoxémies.

a. L'alimentation

Rappels préliminaires :

PDI : Protéines vraies réellement digestibles dans l'intestin

PDIM : PDI qui proviennent des protéines vraies formées par la population microbienne du rumen

PDIME : PDIM qui correspondent à la teneur de l'aliment en énergie fermentescible dans le rumen

PDIMN : PDIM qui correspondent à la teneur de l'aliment en azote fermentescible dans le rumen

PDIA : PDI qui sont d'origine alimentaire

L'alimentation est le principal facteur de risques responsable des déséquilibres de la flore intestinale à l'origine des entérotoxémies. En effet, une alimentation trop riche en matières azotées ou glucidiques fermentescibles joue un rôle primordial [DUCLUZEAU R et al, 1989].

Les matières azotées alimentaires subissent dans le rumen une dégradation plus ou moins intense et rapide à l'origine de la production d'ammoniac. Cette dégradation est très rapide 43 pour les constituants non protéiques (amides, peptides, acides aminés libres...) qui diffusent dans le liquide du rumen. Elle est aussi très rapide en ce qui concerne l'urée de part l'action des uréases libres en concentration importante. Quant à la dégradation des protéines,

elles sont attaquées dès qu'elles sont libérées des cellules lors de la rupture des membranes pendant de la mastication ou sous l'action des bactéries cellulolytiques. Les produits de dégradation des constituants azotés fermentescibles (ammoniac, acides aminés et peptides) sont utilisés par les corps microbiens du rumen pour élaborer des protéines. Cependant, une partie des protéines alimentaires n'est pas dégradées dans le rumen.

La notion de protéines vraies réellement digestibles dans l'intestin (PDI) a été développée en tant que système original (Institut National de la Recherche Agronomique : INRA) pour calculer les apports et les besoins azotés des ruminants. Les PDI comprennent les protéines digestibles dans l'intestin d'origine alimentaire (PDIA) et les protéines digestibles d'origine microbienne (PDIM). Chaque aliment est caractérisé par deux valeurs azotées, l'une par sa teneur en azote fermentescible dans le rumen ($PDIN = PDIA + PDIMN$), l'autre par sa teneur en matière organique digestible ou en énergie digestible ($PDIE = PDIA + PDIME$). Lors d'apport excessif d'azote fermentescible (excès de PDIN par rapport au PDIE), l'énergie de la ration n'est pas suffisante pour utiliser les produits de dégradation des constituants azotés pour la fabrication de protéines microbiennes. L'ammoniac se trouve en excès dans le rumen provoquant une alcalose ruminale suite au passage à travers la paroi du rumen et à la diffusion dans le sang. Cette hyperammoniémie inhibe, par action directe sur les centres moteurs, l'éructation, le péristaltisme intestinal et aboutit à une atonie intestinale. Le foie ne peut plus effectuer son rôle de détoxification (réactions de désaminations oxydatives de l'ammoniaque en urée) et une insuffisance hépatique s'installe. Une partie de cette urée revient au rumen par la salive ; l'ammoniac qu'elle y donne s'ajoute à l'ammoniac déjà excédentaire et n'est d'aucune utilité pour la population microbienne. Cette augmentation intempestive du taux ammoniacal dans le tube digestif favorise la prolifération d'une flore alcalinophile, notamment *C. perfringens*, dans l'intestin à l'origine d'entérotoxémie [JORRIGUE R, 1980].

Dans ces circonstances, l'excès de substrats alimentaires atteignant l'intestin favorise la prolifération des clostridies. On trouve cette situation lors d'alimentation riche en azote fermentescible : herbe jeune de pâturage, ensilages d'herbe riches en azote soluble ou apports d'urée trop importants et ingérés rapidement. Lors de la mise aux pâtures aux printemps avec une herbe riche en azote fermentescibles, le risque d'entérotoxémie est accru. La littérature relate que l'apport d'engrais (ammoniacaux et potassiques) sur des pâtures favorise une augmentation des taux de matières azotées solubles des pâtures, entraînant une surcruescence de cas d'entérotoxémies des ruminants paissant sur celles-ci [JORRIGUE R et al, 1980].

Des situations similaires sont décrites lors de rations acidogènes (excès de glucides fermentescibles), par exemple excès de céréales sans transition, entraînant une acidose lactique du rumen avec une diminution du pH intra-ruminal à 5 ; une atonie du rumen et du réseau s'installe. La multiplication des clostridies et la toxinogénèse sont alors favorisées par l'arrivée de substrats alimentaires non digérés (amidon et protéines non fermentés) [ESPINASSE J, 1980 ; TARTERA P, 1972].

Les transitions alimentaires brutales ne permettent pas à la flore de s'adapter, par exemple le passage d'une flore cellulolytique à une flore protéolytique lors de la mise aux pâtures au printemps après une ration riche en fourrages l'hiver. Cette transition brutale peut favoriser le développement des c râbles, la même situation se présente à l'automne suite à une repousse abondante de l'herbage [ESPINASSE J, 1980].

b. Le stress le péristaltisme et la sécrétion biliaire

Le stress constitue un facteur de risque d'entérotoxémie. La perturbation de la digestion par une mauvaise irrigation du tube digestif suite à un stress (manipulations brutales, tonte, transport) provoque une libération d'adrénaline entraînant une vasoconstriction de la circulation du tube digestif. Il provoque un ralentissement du transit voire son arrêt et une perturbation du pH gastrique [LEFEVRE R, 2003]. On aboutit à une stase intestinale [BRONZI D, 2002].

Une diminution du péristaltisme entraîne une rupture de l'effet dépresseur de la flore digestive et contribue à la multiplication des clostridies. En effet, *Clostridium perfringens* n'adhère pas de façon spécifique à la muqueuse intestinale et est éliminé par le transit tout comme les toxines libres dans la lumière. L'augmentation de celui-ci a un effet protecteur et limite les atteintes tissulaires [POPOFF M.R, 1996]. Il est plus important dans la partie proximale de l'intestin ce qui est à mettre en rapport avec la plus forte densité de bactéries dans la partie distale de celui-ci [POPOFF M, 1989]. Toutes modifications du péristaltisme intestinal prédisposent l'animal à une prolifération bactérienne [COTTEREAU PH, 1967].

La sécrétion biliaire possède un rôle antiseptique qui n'est pas à négliger dans les cas d'entérotoxémie [JOUBERT L, 1967]. Les acides biliaires conjugués inhibent la multiplication des bactéries non présentes à l'état naturel au niveau du tube digestif. Les actions des acides biliaires permettent la sélection de certaines souches bactériennes [POPOFF M, 1989].

c. Le climat et la saison

Les entérotoxémies sont souvent décrites comme des maladies saisonnières, la majorité des cas se situe au printemps et à l'automne. Ces périodes correspondent aux saisons de changement brutal d'alimentation au printemps avec la mise à l'herbe des ruminants et un apport excessif de matières protéiques. En effet, on passe d'une ration hivernale riche en cellulose (fourrages) à une alimentation très riche en matières protéiques avec les pâtures.

Les fortes variations de températures influent également sur l'apparition des entérotoxémies. En effet, un refroidissement brusque provoque une atonie digestive, permettant la prolifération des bactéries pathogènes comme les clostridies. De nombreux cas d'entérotoxémies ont été observés suite à une nuit très froide sur des animaux aux pâturages.

Même si la température peut jouer un rôle important dans le processus de déclenchement d'une entérotoxémie, il faut le mettre en corrélation avec d'autres facteurs favorisants [COTTEREAU PH, 1967].

On note que cette description saisonnière des entérotoxémies correspond plus à des facteurs de conduite d'élevage avec une transition alimentaire brutale (excès de matières protéiques ou glucidiques) plutôt qu'à des facteurs climatiques.

d. Utilisation d'antibiotiques

L'antibiothérapie, dont l'action vise à détruire ou à inhiber un ou plusieurs agents pathogènes, a également un effet sur les bactéries commensales du tube digestif. Cette action peut passer inaperçue sur le plan clinique. L'utilisation excessive des antibiotiques est un problème actuel. Leur administration par voie orale de manière inadaptée entraîne la sélection ou l'émergence de certaines souches bactériennes dans le tube digestif. Les molécules les plus utilisées sont à visée Gram négatif, ce qui contribue à la sélection des bactéries Gram positif comme les clostridies. La flore 45 commensale du tube digestif est sensible aux antibiotiques, qui la modifient et favorisent la prolifération des bactéries toxigènes. Les antibiotiques distribués à titre thérapeutique ou préventif sélectionnent dans le tube digestif des souches bactériennes résistantes à des familles d'antibiotiques. Ceci s'est accentué durant ces dernières années [JOUBERT L, 1967].

Il est à noter que certains antibiotiques (gentamycine) induisent l'expression de gènes, comme le gène *cpb2* de plus en plus représentés dans les entérotoxémies bovines, mais sans conséquence pratique [FREY J, 2003].

e. Le parasitisme

Le parasitisme peut interférer et favoriser l'entérotoxémie. Les parasites intestinaux des ruminants créent par leur action traumatisante des portes d'entrée aux bactéries anaérobies.

Des études montrent qu'une forte infestation des agneaux et des chevreaux par *Moniezia expansa* favorisent les entérotoxémies.

En effet, des lésions inflammatoires sont responsables d'un épaissement de la muqueuse intestinale (une coupe histologique révèle une destruction de l'épithélium et de l'endothélium vasculaire) favorisant l'absorption des toxines [THOMAS P.I, 1956 ; BRONZI D, 2002].

Ostertagia se développe dans les glandes gastriques, diminuant l'acidité de la caillette. Cette modification du pH provoque une diminution du péristaltisme permettant la prolifération des clostridies. La coccidiose et la cryptosporidiose provoquent des réactions inflammatoires importantes de l'intestin, altérant la muqueuse intestinale et favorisant la dissémination des toxines de *Clostridium perfringens* par voie sanguine [BRONZI D, 2002 ; POPOFF M, 1989].

La fasciolose (*Fasciola hepatica*) est souvent associée aux entérotoxémies. Les douves altèrent le fonctionnement hépatique par une destruction des hépatocytes et une obstruction des canaux biliaires, modifiant le rôle bactéricide de la bile et diminuant le péristaltisme intestinal [BRONZI D, 2002].

Les lésions du pancréas peuvent favoriser l'apparition des entérotoxémies. La diminution de la sécrétion glandulaire exocrine et en particulier de la trypsine, inductrice ou inhibitrice de certaines toxines, peut interférer dans cette pathologie [JOUBERT L, 1967].

2.3.2. Facteurs intrinsèques

Les différents éléments de l'épidémiologie descriptive sont souvent abordés, tels que l'espèce, la race, le sexe, l'âge, dans les causes favorisantes des entérotoxémies néanmoins ils ne sont pas considérés comme prépondérants dans cette maladie. Nous décrivons brièvement ces différents facteurs intrinsèques.

a. L'espèce

Les entérotoxémies concernent toutes les espèces mais elles sont plus fréquentes chez les ruminants, et tout particulièrement les ovins [GLOCK R.D, 1998 ; POPOFF M, 1989]. Cette prédisposition peut s'expliquer par le fait qu'ils sont plus exposés par les systèmes de

productions intensifs à une alimentation favorisant les entérotoxémies [COTTEREAU PH, 1967].

b. L'âge

L'âge des ruminants atteints d'entérotoxémie est ample, allant d'un jeune de 48 heures à l'âge adulte [MANTECA CH, 1994]. Néanmoins certaines classes d'âges sont plus décrites tels que les jeunes ou les animaux de réforme [COTTEREAU PH, 1967] Pour les jeunes ruminants : le sevrage, la période de l'engraissement ou l'allaitement avec une bonne laitière semblent prédisposées l'animal à cette maladie. En ce qui concerne les adultes, les plus touchés sont ceux à l'engraissement (réformes) ou en lactation avec des rations riches en concentrés, en bandes sur des pâturages luxuriants au printemps et à l'automne [POPOFF M, 1989].

Les différentes classes d'âges décrites sont plutôt à rapprocher avec les conduites d'élevages utilisées et l'alimentation. En effet, pour les bovins, les entérotoxémies affectent toutes les catégories mais les plus touchés sont [TARTERA P et al, 1972]

- Les veaux allaitants à la mise à l'herbe
- Les veaux de boucherie alimentés au distributeur automatique
- Les taurillons à l'engrais en début ou en fin d'engraissement
- Les vaches laitières surtout pendant la période péripartum
- Les vaches de réforme

c. La race et la conformation

Chez les bovins, les races à viandes sont les plus exposées à la maladie (charolaise, blonde d'aquitaine, Blanc Bleu Belge) car considérées comme races à croissance rapide, elles sont soumises à une alimentation très énergétique [COTTEREAU PH et al, 1967].

Les races Blanc Bleu Belge et charolaise sont fréquemment citées dans les cas d'entérotoxémie, mais ceci est explicable par le fait que la majeure partie des études se sont portées sur celles-ci. Alors que d'autres races comme les Prim'Holstein peuvent être également concernées dans des conduites d'élevages intensives [80]. On retrouve aussi cette description chez les ovins telles pour la race Southdown [COTTEREAU PH, 1967].

Les animaux atteints sont souvent les plus beaux sujets (gras ou en bon état d'engraissement) au sein du troupeau [POPOFF M et al, 1989].

Depuis de nombreuses années, on accorde beaucoup d'importances aux facteurs de la réceptivité intrinsèque et extrinsèque. En fait, derrière ces facteurs intrinsèques (race, sexe, âge) se cachent des conduites d'élevage différentes qui conditionnent le risque d'entérotoxémie. Une conduite d'élevage avec une alimentation intensive génère le risque d'entérotoxémie alors qu'un système extensif le réduit.

2.4. Symptômes

2.4.1. Entérotoxémie à *Clostridium perfringens* de type A nonentérotoxinogène

Le toxinotype A de *C. perfringens* avec la toxine α (toxine majeure) est le plus décrit dans la littérature [LEFEVRE R et al, 2003]. Sa prévalence peut atteindre 84% des cas d'entérotoxémie. On peut l'isoler dans l'environnement et dans les intestins des animaux et des hommains. Son rôle pathogène est essentiellement à l'origine de la gangrène gazeuse alors qu'il reste très controversé dans le déclenchement des entérotoxémies [LEFEVRE R, 2003]. Il est soupçonné d'intervenir dans l'ulcère perforant et l'inflammation de la caillette chez le veau [AL-MASHAT R.R, 1983].

La toxine α est la toxine majeure. Des injections intraveineuses de toxines de type A provoquent chez le veau des troubles digestifs évoluant vers la mort [NILO L, 1973]. L'action de la toxine α seule reste contestée. En effet, les lésions dues à la destruction des membranes sont essentiellement liées à l'action de la toxine α mais pour certains auteurs, le pouvoir pathogène de ce toxinotype est dû essentiellement à l'entérotoxine [SAWIRES Y.S, 2005 ; WALKER R.L, 2004].

Ce toxinotype est désigné sous le nom de la maladie de « l'agneau jaune » chez les ovins (Yellow Lamb Disease) et des cas similaires ont été répertoriés chez les bovins et caprins.

L'action hémolytique des toxines dans la circulation sanguine est à l'origine des symptômes, provoquant une hémolyse intra vasculaire et des lésions des capillaires, une inflammation, une agrégation des plaquettes, un état de choc entraînant la mort de l'individu [ENGLISH J.E et al, 1966].

2.4.2. Entérotoxémie à *Clostridium perfringens* de type B

Le toxinotype B produit la toxine α , la toxine β et la toxine ϵ . La toxine β est considérée comme l'agent principal des lésions observées lors de cas d'entérotoxémies décrites de type B [WALKER R.L, 2004].

Le toxinotype B est décrit comme responsable de la dysenterie de l'agneau (lamb dysenterie). Il entraîne aussi des entérotoxémies chez le mouton et des entérites hémorragiques néonatales chez le veau [SONGER J.G, 2004 ; WALKER R.L, 2004].

Cette prédilection de la maladie pour les nouveau-nés est due à la neutralisation de la trypsine par le colostrum. En effet, la trypsine détruit la toxine β mais elle est inhibée par les substances antitrypsines contenues dans le colostrum. Les toxines β et ϵ affectent le système nerveux et provoquent de sévères dépressions, se traduisant par une forte mortalité. Le rôle de la toxine ϵ , dans les affections du cerveau, est moins important que celui de la toxine β , en raison de l'inhibition des enzymes protéolytiques, nécessaires à son activation, par le colostrum [STAMATIN N, 1967 ; WALKER R.L, 2004].

L'entérotoxémie due à *C. perfringens* de type B prend souvent un caractère enzootique. La mortalité au sein d'un troupeau peut atteindre entre 40 et 90% des animaux. Il n'y a pas de transmission entre troupeaux voisins [STAMATIN N, 1967].

D'après les cas décrits dans la littérature, ce toxinotype est souvent associé à une entérite hémorragique. Les lésions de l'intestin comprennent une congestion, de l'œdème et des hémorragies. Le résultat est une entérotoxémie accompagnée d'une entérite avec ulcérations et hémorragies de l'intestin grêle [WALKER R.L, 2004].

2.4.3. Entérotoxémie à *Clostridium perfringens* de type C

Ce toxinotype produit les toxines α et β . La maladie présente un caractère sporadique et rarement enzootique.

Il a été décrit chez les adultes sous la dénomination de maladie de « Struck ». Dans les années 60, la description de cas correspondant à ce toxinotype a eu une très grande importance économique par les pertes occasionnées [POPOFF M et al, 1989].

Les cas décrits pour ce toxinotype présentent une nécrose de la muqueuse intestinale sans diarrhée apparente [SONGER J.G, 2004]. Les symptômes sévères s'installent en 24 à 48 heures : coliques, douleur abdominale et une diarrhée hémorragique. L'animal développe des signes nerveux et meurt dans un délai de 2 à 24 heures Les premiers symptômes observés

chez les veaux sont frustrés et se traduisent essentiellement par une anorexie. [ENGLISH J.E, 1966].

Chez les agneaux allaitants, souvent âgés de quelques jours, les signes cliniques sont moins importants. On observe des tremblements et de la prostration. Les jeunes, en bonne santé, âgés de 2 à 10 jours, développent une entérite hémorragique et nécrotique [ENGLISH J.E et al, 1966].

2.4.4. Entérotoxémie à *Clostridium perfringens* de type D

Le toxinotype D produit les toxines α et ϵ . La toxine ϵ est considérée comme le facteur essentiel d'apparition de la maladie [POPOFF M, 1989].

L'entérotoxémie, connue sous le nom de maladie du « rein pulpeux » (pulpykidneydisease) et décrite chez des cas en rapport avec le toxinotype D, est responsable de 37 nombreuses mortalités chez les ovins conduisant à de lourdes pertes économiques [LEFEVRE R, 2003].

L'affection se traduit au sein d'un troupeau le plus souvent sous forme sporadique [STAMATIN N, 1967]. Elle affecte les agneaux âgés de moins d'un an et occasionnellement les chèvres et les veaux et se traduit par une mort subite. La toxine majeure ϵ entraîne essentiellement des symptômes nerveux (opisthotonos, amaurose). Elle se traduit par une incoordination, un tourner en rond, de la nervosité, de l'inappétence, de la prostration, de l'opisthotonos et des fasciculations des yeux [ENGLISH J.E, 1966 ; LEFEVRE R, 2003].

Il ne semble pas fortement impliqué dans les cas d'entérotoxémies chez les bovins. En effet, les bovins semblent développer une faible immunité naturelle contre la toxine ϵ à la différence des ovins [DAUBE G, 1992].

Chez les caprins, ce type d'entérotoxémie se traduit par une entérocolite, tandis que chez les ovins, les lésions affectent le cerveau et le foie (œdème) et très peu de modifications sont observés au niveau de l'intestin [MIWAKAWA F.M.E, 2003].

2.4.5. Entérotoxémie à *Clostridium perfringens* de type E

Le toxinotype E décrit chez certains sujets est caractérisé par la production de toxines α et ι . Son incidence est peu élevée dans l'entérotoxémie. Des expériences restent à effectuer pour éclaircir le rôle pathogène de cette souche. La toxine ι est constituée de deux sous unités, l'une permettant la reconnaissance des récepteurs spécifiques cellulaires, l'autre étant le support de l'activité biologique. Ces sous unités expliquent la sensibilité variable selon les

espèces [DAUBE G et al, 1996]. Ce toxinotype est décrit dans des cas d'entérites hémorragiques du veau [BILLINGTON S.J, 1998].

2.4.6. Entérotoxémie à *Clostridium perfringens* de type A entérotoxigène

Ce toxinotype possède un rôle important en médecine humaine, il produit l'entérotoxine responsable de gastroentérite humaine d'origine alimentaire.

La toxine a très peu d'action sur les cellules de la muqueuse intestinale mais elle provoque une accumulation de liquide dans l'intestin se traduisant par de la diarrhée. Chez les bovins et caprins, peu d'études ont démontré une véritable implication de ce pathovar dans le développement de la maladie. Elle a été classée dans le toxinotype de type A même si cette toxine a été isolé dans les autres toxinotypes [DAUBE G et al, 1992].

2.4.7. Entérotoxémie à *Clostridium sordellii*

Clostridium sordellii est à l'origine d'entérites hémorragiques chez les bovins et les ovins, mais aussi des entérotoxémies. Les toxines de *C. sordellii* ont été isolées dans le péritoine d'animaux qui sont mort subitement avec un diagnostic de forte suspicion d'entérotoxémie [AL-MASHAT R et al, 1983].

La classification phénotypique est ancienne et ne prend pas en compte les nouvelles toxines qui ont découvertes ces dernières années comme la toxine β_2 . De plus il est difficile sur le terrain d'attribuer un toxinotype spécifique pour chaque cas d'entérotoxémie. En effet, aucun tableau épidémio-clinique et lésionnel n'est spécifique d'un toxinotype particulier mais plutôt de l'action des multiples toxines produites au sein de l'intestin de l'animal [ENGLISH J.E et al, 1966].

2.5. Lésions

Le diagnostic nécropsique est indispensable pour permettre d'exclure certaines pathologies responsables de mort subite (ulcères de caillette, fulguration...) [GLOCK R.D, 1998]. L'autopsie doit être rapide et complète. Elle permet de mettre en évidence des lésions en rapport avec une suspicion d'entérotoxémie.

L'existence de dominantes lésionnelles rapportées à un toxinotype particulier reste très théorique et non adapté au terrain. Une grille lésionnelle a été récemment mise en place permettant de relever l'ensemble des lésions et de les comparer aux lésions caractéristiques d'entérotoxémie [LATOURE P, 2004].

2.5.1. Aspect général

a. Aspect extérieur

A l'autopsie, les cadavres présentent souvent un bon état d'engraissement, comme de la graisse sous-cutanée abondante témoin d'un embonpoint exagéré, montrant que cette maladie n'est pas la phase terminale d'une maladie chronique [MANTECA CH et al, 1994]. Les muqueuses sont le plus souvent très congestionnées, mais dans certains cas elles peuvent être pâles, cyanosées ou ictériques [MANTECA C, 2000 ;BRONZI D, 2002]. L'action hémolytique de la toxine α se traduit par un ictère pré-hépatique généralisé [MANTECA CH, 1994]. En effet, la destruction importante des hématies provoque une libération intense d'hémoglobine dans le plasma. L'accumulation de la bilirubine libérée par l'activité intense de la glycurono-conjugaison aboutit à cet ictère.

En ce qui concerne les cas d'entérotaxémies liées à *Clostridium sordellii*, la surface de la peau crépite à la palpation, ce qui est à différencier des gangrènes gazeuses (issue d'une plaie traumatique) dont cette bactérie est agent. Une congestion du cadavre et un liquide sanguinolent s'écoulant par le mufler ont été observés chez certains sujets [COTTEREAU PH et al, 1992].

b. Aspect interne

A l'ouverture des cavités abdominale et thoracique, on constate la présence d'un épanchement séreux et sanguinolent voire de l'ascite pour certains sujets, lésions majeures des toxines α et β [MANTECA C, 2001]. En effet, ces toxines agissent sur l'endothélium des vaisseaux en augmentant leur perméabilité, ce qui est responsable de l'apparition d'hémorragies et d'épanchements. Une putréfaction rapide du cadavre s'installe après la mort, affectant d'abord le rein et le foie. Les séreuses péritonéales, pleurales et péricardiques présentent des pétéchies et des suffusions. Dans certains cas les séreuses sont recouvertes de fibrine [POPOFF M, 1989].

2.5.2. Les organes internes

a. L'appareil cardio-respiratoire

➤ Les poumons

- **Au niveau macroscopique**

Les modifications circulatoires sont à l'origine des lésions de l'appareil respiratoire. Les poumons présentent une congestion active. Parfois ils sont œdémateux, avec un dépôt de fibrine ou un exsudat séreux ou sérofibrineux dans les alvéoles. L'accumulation d'écume retrouvée souvent dans les voies respiratoires est à relier à une souffrance ante mortem plutôt qu'à une lésion caractéristique d'entérotaxémie. Des ecchymoses et des pétéchies peuvent être visibles sur le diaphragme, la séreuse pleurale et le thymus mais ceux-ci ne présentent en général aucune anomalie [DAUBE G, 1992 ; GRINER L.A, 1953].

- **Au niveau microscopique**

Lors d'injection intraveineuse de toxine α et ι , on retrouve un œdème interstitiel et intraalvéolaire associés à une hyperplasie lymphoïde péribronchiolaire et une atelectasie [NILO L et al, 1973].

➤ Le cœur et l'appareil vasculaire

- **Au niveau macroscopique**

Le cœur présente des pétéchies et des ecchymoses sur l'endocarde, l'épicarde et le myocarde. Un épanchement séro-hémorragique dans le péricarde est observé dans la majorité des cas. Un œdème périvasculaire est présent plus souvent autour des petites et moyennes artères que des veines [UZAL F.A, 2004]. Ces lésions proviennent de l'altération de l'endothélium vasculaire par les toxines provoquant une augmentation de sa perméabilité [GARDNER D.E, 1973 ; POPOFF M, 1989].

- **Au niveau microscopique**

Les lésions myocardiques sont souvent minimales. Les cellules cardiaques présentent des dégénérescences vacuolaires ou hyalines.

Elles peuvent montrer de légères infiltrations calcaires ainsi qu'une caryolyse. Dans quelques cas, on constate une minéralisation des parois des vaisseaux comme l'aorte, des veines et des artères [GRISEMER R. A, 1962]. Néanmoins ces lésions ne sont pas systématiques et significatives d'entérotaxémie.

b. L'appareil digestif

➤ **La cavité buccale**

Chez certains sujets, il a été décrit des cas de stomatites avec hyperplasie locale de l'épithélium linguale. La stomatite est plutôt à considérer comme une lésion concomitante et non spécifique de l'entérotoxémie [GRISEMER R.A, 1962].

➤ **La caillette et le rumen**

Les pré-estomacs ne présentent généralement pas de lésions significatives [MANTECA CH, 1994]. Ils sont souvent remplis d'aliments et en particulier de lait chez les jeunes. Une ruminite, de gravité variable, est associée à un décollement de l'épithélium du rumen. Le pH du rumen est souvent acide, compris entre 4-5. La caillette est souvent congestionnée et présente des ecchymoses, des pétéchies en surface et des hémorragies diffuses non ulcératives [MANTECA C et al, 2000].

D'après ROEDER et al. En 1987, la toxine α a été soupçonnée de provoquer une inflammation de la caillette chez le veau pouvant aller jusqu'à l'ulcère perforant [ROEDER B.L, 1987 ; GRINER L.A, 1961]. Il en est de même pour la toxine ι avec une gastrite associée à des hémorragies de la muqueuse avec une infiltration neutrophilique importante [SONGER J.G,2004]. Mais depuis, les recherches histologiques effectuées sur la paroi de la caillette ne permettent pas de définir ces lésions commesignificatives d'entérotoxémie.

➤ **L'intestin grêle**

• **Aspect macroscopique**

Les lésions de l'intestin grêle sont systématiques lors d'entérotoxémie. La lésion typique est une entérite hémorragique ou séro-hémorragique avec un contenu liquidien sérohémorragique. Les anses intestinales sont dilatées par la présence de gaz issu des bactéries [LEFEVRE P.C et al, 2003]. Il peut être affecté dans sa totalité (entérite aiguë diffuse) ou seulement dans certaines zones localisées du jéjunum ou de l'iléon (entérite aiguë localisée). La paroi présente un œdème, une congestion, une nécrose et des hémorragies. Des pétéchies sur le jéjunum et le colon peuvent être présentes dans certains cas avérés de la maladie [GRISEMER R.A et al,1962].

Depuis de nombreuses années, on a essayé d'associer chaque lésion de l'intestin grêle à un toxinotype particulier qui sont décrites ci suivant :

- ✓ Dans les cas de toxinotype A, les lésions essentielles sont celles d'entérite ou de gastroentérite (œdème, hémorragies, pétéchies et nécrose) avec une congestion des

vaisseaux du mésentère. Les lésions se situent le plus souvent sur le jéjunum et l'iléon. Le contenu intestinal est liquidien et de nature hémorragique ou non [DAUBE G et al, 1992].

- ✓ Pour le toxinotype B, la nécrose de la muqueuse intestinale de l'iléon provoque la destruction complète des villosités [].
- ✓ Dans le toxinotype C, on retrouve une congestion de l'intestin et une entérite hémorragique ulcérateuse surtout dans la portion du jéjunum et de l'iléon. Une couleur violacée est visible sur des portions voire la totalité des anses intestinales [MANTECA CH, 1994 ; HEPPLER J.R, 1952].
- ✓ Pour le toxinotype D, les zones de congestion sont de plus en plus importantes en regard de l'iléon [MANTECA CH et al, 1994].
- ✓ Les lésions du toxinotype E sont semblables à celles du toxinotype A, avec une nécrose hémorragique, une congestion intense et des pétéchies. Le contenu est muqueux et hémorragique [MANTECA CH, 1994]

Cette classification lésionnelle en fonction d'un toxinotype montre une certaine homogénéité des lésions rendant difficile une interprétation lésionnelle toxintypique. En effet, les lésions caractéristiques telles qu'une entérite hémorragique ou séro-hémorragique avec congestion, un contenu intestinal liquidien et hémorragique sont décrites dans chaque toxinotype

- **Aspect microscopique**

Au microscope, on observe une nécrose et une destruction des villosités intestinales. Les principales lésions se situent au niveau de la muqueuse et de la sous muqueuse [GRINER L.A et al, 1953]. Trois types de nécrose ont été décrits :

- ✓ Une nécrose au sommet des villosités avec hémorragie infraliminale.
- ✓ Une nécrose totale de l'épithélium villositaire avec préservation de l'axe conjonctivovasculaire,
- ✓ Une nécrose de l'axe conjonctivo-vasculaire menant à la disparition totale de la villosité [MANTECA C, 2000].

La membrane nécrosée des villosités est souvent à l'origine d'une destruction totale de celles-ci. La nécrose est limitée à la muqueuse alors que l'hémorragie et l'hyperhémie

affectent à la fois la muqueuse et la sous-muqueuse [GRINER L.A, 1957 ; HEPPLER J.R, 1952]. Dans les portions saines, on observe un afflux important de polynucléaires neutrophiles, de lymphocytes et de macrophages [MANTECA C, 2000]. La lamina propria est partiellement détruite suite à cette forte infiltration ; les capillaires sont dilatés et une grande densité de bactéries en bâtonnet, Gram + sont visibles au niveau des villosités [AL-MASHAT R.R, 1983].

➤ **Le colon et le caecum**

Les portions terminales du tube digestif sont souvent moins affectées. Une colite congestive ou hémorragique et une typhlite sont constatées. La musculature de ces organes est infiltrée par des neutrophiles, des macrophages et des lymphocytes [[MANTECA CH, 1994 ; HEPPLER J.R, 1952]. Dans certains cas, une colite pseudomembraneuse est présente chez les caprins mais cette lésion n'est pas spécifique. Parfois, on observe la présence de nécrose hémorragique et pétéchies sur la muqueuse du colon et du caecum [MANTECA CH, 1994].

➤ **La rate**

La rate est de consistance diminuée. Une splénomégalie avec ou sans congestion et des pétéchies sont quelques fois mises en évidence [MANTECA CH et al, 1994]. Ceci reste très théorique car il est difficile d'apprécier une splénomégalie chez les ruminants selon la présence ou non de splénocontraction au moment de la mort.

➤ **Les reins**

• **Aspect macroscopique**

Les reins apparaissent congestionnés ou hémorragiques, de consistance diminuée mais ils peuvent dans certains cas ne présenter aucune lésion. L'ictère produit par l'action hémolytique de la toxine α entraîne l'accumulation de produits toxiques conduisant à une néphrite. Des hémorragies et des pétéchies peuvent être observées dans le cortex rénal. Le rein pulpeux, dû à la toxine ϵ , est typique et évocateur d'entérotoxémie chez les ovins et plus rare chez les bovins. Cette diminution de consistance est liée à une dégénérescence rénale mais selon certains auteurs cette lésion serait surestimée et liée en grande partie à l'autolyse rapide en quelques heures de l'organe [UZAL F.A, 2004].

D'après notre étude, nous avons pu constater que la diminution de consistance liée à l'autolyse est beaucoup moins intense et très facile à différencier de celle liée aux toxines de l'entérotoxémie [données personnelles du Professeur BEZILLE]. Le rein est entièrement

détruit, très mou et difficile à couper à l'autopsie. L'absence du rein pulpeux n'est pas un critère d'exclusion de l'entérotoxémie.

- **Aspect microscopique**

Au niveau microscopique, les lésions des reins se traduisent par une dégénérescence parenchymateuse. Les observations microscopiques montrent des lésions de périglomérulite subaiguë focale en anneau, de nécrose des cellules épithéliales des tubes contournés proximaux et distaux. La limite cortex médulla présente un aspect hémorragique avec une corticale granuleuse, jaune et friable [GRISEMER R.A, 1962 ; MANTECA C, 2000].

- **Le foie**

Le foie est généralement de consistance friable, congestionné, décoloré et des « foyers de nécrose » sont présents. Dans certains cas, des lésions importantes de dégénérescence graisseuse sans congestion sont observées, associées à de larges zones de dégénérescence granuleuse voire vacuolaire ainsi qu'une caryolyse des hépatocytes entourant les veines centro-lobulaires intervenant dans le drainage sanguin des territoires entériques lésés [POPOFF M et al, 1989].

- **Le système lymphatique**

Les nœuds lymphatiques mésentériques et médiastinaux sont systématiquement hypertrophiés œdémateux et hémorragiques. On constate de larges zones de nécrose sur les portions corticales et médullaires des ganglions [AL-MASHAT R.R et al, 1983].

- **La vessie et urine**

Très peu de lésions sont décrites pour cet organe.

Dans quelques cas, la vessie est congestionnée avec une urine rouge liée à la présence d'hémoglobine. Chez les ovins atteints d'entérotoxémie, l'analyse d'urine révèle la présence de glucose en grande quantité. Des études sur des agneaux ont montré qu'environ la moitié d'entre eux présentait une forte glucosurie. La glyco-génolyse des réserves hépatiques entraîne une élévation du taux de glucose sanguin. L'hypothèse la plus probable est une décharge de catécholamines suite à un œdème cérébral due à l'action de la toxine ϵ . Une glucosurie élevée peut être un indicateur dans le diagnostic des entérotoxémies, a contrario, une absence de glucose dans l'urine ne permet en aucun cas d'effectuer un diagnostic d'exclusion [UZAL F.A et al, 2004].

- **Le cerveau**

- **Aspect macroscopique**

En général, le cerveau est congestionné voire hémorragique. En effet, on trouve des

Organes cibles	Lésions et observations caractéristiques d'entérotoxémies
-----------------------	--

phénomènes congestifs ou même hémorragiques sur les méninges. Le cerveau est mou, avec des sillons peu profonds et des crevasses sur le cortex cérébral [GRINER L, A et al, 1961].

Chez les ovins, la présence de foyers d'encéphalomalacie oriente le diagnostic vers une action de la toxine ϵ . Ces foyers sont caractérisés par des lésions focales symétriques. Une nécrose bilatérale et symétrique du parenchyme du cerveau s'installe, touchant le corpus striatum, le thalamus et plus rarement le cortex cérébelleux. Les études d'UZAL, par injection intraveineuse de toxine ϵ chez des veaux, décrivent aussi des lésions d'encéphalomalacie symétrique avec l'association de symptômes nerveux [UZAL F.A, 2002].

- **Aspect microscopique**

Les toxines agissent indirectement sur le système nerveux central par l'augmentation de la perméabilité vasculaire dans le plexus choroïde. On observe une dégénérescence des jonctions serrées des cellules de l'endothélium vasculaire du cerveau, provoquant un gonflement et une rupture des astrocytes [SONGER J.G, 1996 ; BUXTON D, 1976]. L'augmentation de la perméabilité des capillaires provoque une perte de substances (eau, protéines plasmatiques) d'où une augmentation de la pression intracrânienne. Des œdèmes périvasculaires et intercellulaires, une transsudation plasmatique sont observés. En effet, la matière blanche du thalamus, du cervelet et de la capsule interne sont atteintes d'œdème [POPOFF M, 1989 ; BUXTON D, 1976].

La toxine ϵ , chez les ovins, est souvent responsable d'œdème du cerveau et d'hémorragies situés au niveau des méninges et du cervelet. Ceci se traduit par des espaces intercellulaires et péri vasculaires importants et une dégénération des cellules de Purkinje [GRINER L, A et al, 1961].

Le tableau suivant synthétise les lésions les plus caractéristiques lors d'entérotoxémie.

Tableau 5: Synthèse des lésions caractéristiques observées à l'autopsie sur les ruminants morts d'entérotoxémie [LATOURET P, 2004]

CARCASSE	Putréfaction rapide, bon état d'engraissement, belle conformation, parfois muqueuses ictériques
CAVITES ABDOMINALE ET THORACIQUE	Epanchement séro-hémorragique péritonéal et péricardique
CAILLETTE	Muqueuse congestionnée, parfois hémorragique voire nécrotique
INTESTIN GRELE	Muqueuse congestionnée, parfois hémorragique voire nécrotique Contenu intestinal liquide séro-hémorragique
FOIE	Congestionné, friable, décoloré et Hypertrophié
REIN	Congestion de la corticale Pétéchies, hémorragies sous-capsulaire, « reins pulpeux » (ovin)
CŒUR	Pétéchies, suffusions péricardique, endocardique, myocardique
POUMON	Œdème, congestion active
GANGLIONS	Adénite congestive, œdémateuse ou hémorragique
CERVEAU	Œdème, hémorragie, « foyers d'encéphalomalacie » (ovin)

CHAPITRE 03

DIAGNOSTIC

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

1. Prélèvements

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

1.1. Tractus et contenu digestif

Le prélèvement est effectué dans les heures qui suivent la mort, soit 6 heures post mortem pour une recherche de toxine, soit 3 heures post mortem pour un diagnostic bactériologique. Mais ces délais sont difficilement réalisables en élevage [DAUBE et al, 1992].

En effet, la labilité des toxines dans le contenu intestinal oblige à effectuer les prélèvements sur cadavre frais, et éventuellement à les réfrigérer en attente d'analyse. Un prélèvement tardif accroît donc les risques de résultats « faux négatifs » [PHILIPPEAU et al, 2003]. Par ailleurs, l'anaérobiose post mortem est une condition favorable à la multiplication et la diffusion des clostridies dans l'organisme, tant chez l'animal mort d'entérotoxémie que chez l'animal sain.

La cinétique de croissance bactérienne dans le contenu intestinal après la mort reste à étudier chez les petits ruminants. Un prélèvement trop tardif ne permet plus de différencier sur la base du dénombrement bactérien, un animal entérotoxémique d'un animal sain ou mort d'une autre cause [PHILIPPEAU et al, 2003].

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

Deux techniques sont possibles pour le prélèvement du contenu digestif, mais dans tous les cas l'anaérobiose doit être maintenue. La première technique préconise de remplir des flacons stériles à ras bord avec le simple contenu digestif et de les fermer hermétiquement [PHILIPPEAU et al, 2003]. Dans la seconde, des portions de tractus digestif d'environ 15 cm sont prélevées et ligaturées de manière à préserver l'anaérobiose [Van Metre et al, 2000]. Dans ce cas, le dénombrement bactérien risque d'être sous-estimé, donc peu fiable [LATOUR, 2004].

Les prélèvements sont effectués rapidement à cause de la croissance bactérienne et de la labilité des toxines. La concentration de la toxine ϵ chute de 90% en 24 heures dans le tractus

Digestif de l'animal mort [BLACKWELL et al, 1991]. Les prélèvements sont envoyés au laboratoire d'analyse, avec un délai de conservation maximal de 24 heures à 4°C. La congélation est proscrite car non supportée par les clostridies [PHILIPPEAU et al, 2003].

L'addition de conservateurs comme le formol classiquement utilisé pour conserver les prélèvements en vue d'une étude histologique, est susceptible de compliquer l'interprétation des tests. L'anaérobiose doit être conservée et l'emploi de conservateurs est également déconseillé.

1.2. Urine

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

1.3. Liquide péricardique

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

1.4. Tissus et autres sérosités

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

Les sérosités sont prélevées sur tube sec ou dans un pot stérile. La toxine ϵ tolère une conservation longue, évaluée à 48 semaines à 4°C [UZAL, 2004]. La congélation des prélèvements est possible (sauf en vue d'un examen bactériologique).

Elle évite la labilité de la toxine ϵ , mais elle est mal tolérée par la toxine β . L'utilisation de conservateurs est déconseillée car elle complique l'interprétation des tests [Van Metre et al, 2000].

Des fragments d'organe peuvent être également destinés à l'examen histologique, on les conserve alors dans une solution de formol à 10% [MARIANO et UZAL 2005].

Les organes concernés à la microscopie sont les organes cibles des toxines : encéphale surtout chez les ovins, paroi digestive surtout chez les caprins, le foie, les reins, la rate, les poumons et des éléments de l'appareil circulatoire. Les parties lésées sont prélevées pour la recherche et le dénombrement bactériologique.

1.5. Sang

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

2. Méthodes diagnostique

2.1. Etude bactériologique

L'identification et le dénombrement bactérien sont réalisables en routine dans les laboratoires, car faciles et peu coûteux. En règle générale, elle se fait sur contenu digestif, sang ou organes lésés. Elle est la méthode de choix en clientèle.

La cinétique de croissance et le dénombrement bactérien, ont été davantage étudiés chez les ovins. En pratique, les caprins sont assimilés aux ovins pour l'interprétation de leurs résultats. La valeur diagnostique de l'identification et du dénombrement est variable selon l'espèce et le type de Clostridium [UZAL, 2004 ; UZAL et KELLY 1996].

➤ Identification

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

L'interprétation de l'isolement d'une souche de Clostridium sur contenu digestif, varie selon les publications. Le désaccord entre les différents auteurs repose sur la présence de C. perfringens dans l'intestin des animaux sains. Le simple isolement de la bactérie chez un animal malade n'a donc pas de valeur diagnostique [UZAL, 2004]. Cependant, la probabilité d'isoler Clostridium chez l'animal sain change en fonction du type de Clostridium considéré et de son hôte. Pour certains auteurs, C. perfringens type A a une croissance tellement rapide sur culture anaérobie qu'elle peut cacher la présence éventuelle d'autres pathogènes. Une

culture positive pour ce germe, peut rendre le diagnostic plus difficile (Tableau IX) [Van Mètre et al, 2000].

- **Chez l'adulte**

La plupart des auteurs s'accorde à penser que l'isolement de *Clostridium perfringens* types A et D chez les ovins n'est en aucun cas témoin de clostridiose, puisqu'ils sont naturellement présents dans le tube digestif [UZAL, 2004]. Une enquête effectuée chez les caprins, indique que seulement 61% des chèvres saines hébergent des clostridies dans leur intestin et que 3% uniquement hébergent *Clostridium perfringens* type D.

L'isolement de cette bactérie sur une chèvre suspecte d'entérotaxémie serait un indicateur très important. Un résultat négatif ne permet pourtant pas d'exclure une infection à *Clostridium perfringens* type D [UZAL, 2004]. Bien que *Clostridium perfringens* types B et C aient été isolés récemment sur des moutons sains, certains auteurs croient en la valeur diagnostique de leur isolement. Ils ont également été isolés sur des chèvres saines [UZAL, 2004].

- **Chez le jeune**

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

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

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

Tableau 6: Présence et valeur diagnostique de *Clostridium* dans l'intestin des petits ruminants [LATOUR, 2004 ; ROOD, 1998 ; SHOENIAN, 2005 ; SONGER, 1998 ; UZAL, 2004].

Type de clostridium	Présence chez l'animal sain	Valeur diagnostic chez les caprins	Valeur diagnostic chez les ovins
c. perfringens de type A	Oui	Aucune	Chez l'agneau uniquement
c. perfringens de type B	Rare	Oui	Oui
c. perfringens de type C	Rare	Oui	Oui
c. perfringens de type	Possible	Oui	Non
c. sordelli	Non	Oui	Oui
c. septicum	Non	oui	oui

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

➤ Dénombrements

La cinétique de croissance des bactéries après la mort, serait un indicateur important pour le diagnostic. Mais là encore, l'interprétation du dénombrement dépend du type de *Clostridium* considéré. Au moment de la mort, les fractions bactériennes augmentent. Il n'y a pas de différence significative d'augmentation relative des coliformes et des entérocoques en fonction de l'origine de la mort (entérotoxémie ou autre).

En revanche, l'augmentation des sulfite réducteurs (principalement les clostridies) permet d'orienter le diagnostic. Avec un cycle de 10 minutes, une bactérie *C. perfringens* type A initiale peut se multiplier pour atteindre la valeur significative de 10⁷ UFC/ml dans l'intestin grêle dans les 6 premières heures. [LATOUR 2004, PHILIPPEAU et al, 2003] La

concentration de *C. perfringens* augmente lentement dans la caillette et le caecum des ruminants [PHILIPPEAU et al, 2003].

Il existe 2 seuils au-delà desquels il y a maladie. Si on dénombre plus de 10⁶ UFC/ml sur un prélèvement issu d'un animal cliniquement suspect, on considère que l'animal était atteint d'entérotoxémie. Cette valeur est valable après une culture sur milieu TSNR. De plus, les conditions de prélèvement et de conservation suivantes sont indispensables : prélèvement effectué dans les heures qui suivent la mort et conservation en anaérobiose pendant 24h à 4°C.

Pour une culture sur gélose au sang, avec de la cyclo serine et en chambre anaérobie, la valeur seuil sera 10⁸ UFC/ml. De même, hors données épidémiologiques, on considère qu'il y a maladie si on dénombre plus de 10⁸ UFC/ml chez les bovins [LATOUR, 2004].

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

2.2. Le typage

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

2.3. L'identification directe par coloration des bactéries

Un calque et une coloration de GRAM de la muqueuse intestinale duodénale et colique révèlent une multitude de bâtonnets fins, courts et aux bords arrondis, souvent non sporules, colores GRAM positif. *C. perfringens* type D peut être isolé également au niveau des reins et de l'encéphale. Sans être un diagnostic d'exclusion, la coloration GRAM conduit à conforter une suspicion clinique de clostridiose [UZAL, 2004 ; UZAL et KELLY 1, 1998]. Le test sur la muqueuse intestinale est rapide, facile à mettre en place sur le terrain et reste un bon indicateur d'entérotoxémie chez les petits ruminants. La mise en évidence des bactéries ne confirme pas le diagnostic, elle renforce une suspicion.

2.4. Sérologie

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

En pratique, on recherche uniquement la présence des anticorps anti-toxine ϵ dans le sang, via un test ELISA [UZAL, 1998].

CHAPITRE 04

MOYEN DE LUTTE

Etant données la rapidité d'évolution et la sévérité des symptômes, le pronostic est très sombre. Le traitement est souvent illusoire.

On considère que si l'animal se rétablit, il y avait erreur sur le diagnostic. Toutefois, le traitement peut être mis en œuvre sur les formes modérées ou en début d'infection. Les animaux vaccinés demeurent plus réceptifs au traitement et bénéficient d'un meilleur pronostic.

1. PROPHYLAXIES

Avant de présenter la partie expérimentale, il semble nécessaire de détailler brièvement les moyens disponibles pour pallier à cette maladie lorsque le diagnostic de certitude est établi sur un ou des ruminants dans un élevage.

1.1. Prophylaxie sanitaire

L'alimentation joue un rôle important dans les entérotoxémies. Il faut améliorer l'alimentation et les techniques d'élevage lorsque des cas d'entérotoxémies sont diagnostiqués dans un troupeau. L'éleveur doit éviter les changements alimentaires brusques (au sevrage ou à la mise à l'herbe au printemps), la suralimentation constituée d'une ration avec des proportions en matières cellulosiques trop faible par rapport aux taux de matières azotées et glucidiques rapidement fermentescibles. Les changements brusques d'alimentation doivent être modifiés en faveur de transitions plus progressives pour permettre l'adaptation de la flore intestinale à la nouvelle ration. L'apport de foin peut contribuer à rééquilibrer ces rations.

En ce qui concerne les ruminants en ration d'engraissement, une homogénéisation des lots peut limiter les phénomènes de dominance, diminuant les risques d'entérotoxémie chez les sujets dominants ingérant une quantité supérieure d'aliments [POPPF M, 1943 ; JAUBERT L, 1967].

La notion d'aliments lests est à prendre en compte. Une ration riche en foin donc en cellulose constitue l'aliment de lests par excellence pour les ruminants. Elle assure la réplétion des organes digestifs pour un faible apport de matière prévenant l'atonie digestive. L'apport de fibres de cellulose stimule la motricité digestive en particulier la rumination et la salivation servant de milieu tampon [COTTEREAU PH, 1967]

Néanmoins il semble difficile dans les conduites d'élevages intensives de restreindre l'alimentation nécessaire pour optimiser la production. Les conseils sont difficiles à mettre en place car ils vont à l'encontre des objectifs de production de l'éleveur.

1.2. Prophylaxie médicale

Le traitement des entérotoxémies est souvent inefficace et illusoire en raison de la rapidité et de la gravité de l'infection.

a. L'antibiothérapie

L'utilisation des antibiotiques est nécessaire pour limiter la prolifération des clostridies intestinaux. Les clostridies sont sensibles à tous les antibiotiques sauf aux aminosides. On utilise en générale les β -lactamines ou les céphalosporines par voie orale. *Clostridium perfringens* a développé des phénomènes de résistances à certaines familles d'antibiotiques comme les tétracyclines, le groupe des érythromycine et lyncomycine et le chloramphénicol, nécessitant une utilisation raisonnée de l'antibiothérapie [POPOFF M et al,1989].

b. La sérothérapie

Elle consiste en l'administration de sérums (sérums homologues ou hétérologues monovalent ou polyvalent). Les sérums contiennent des anticorps qui neutralisent les toxines circulantes cependant ils n'agissent pas sur les toxines présentes sur les organes cibles. Son intérêt à titre curatif est limité. La protection lors de l'administration de sérums s'installent rapidement et durent de 2 à 4 semaines. Cette méthode peut être utilisée en cas d'urgence mais le coût élevé et la difficulté à se fournir en sérums diminuent son utilisation [POPPFF M, 1989].

c. La vaccination

La vaccination est utilisée lors de cas déclarés d'entérotoxémie. Elle consiste à stimuler la protection immunitaire. La réponse immunitaire post vaccinale est variable selon les espèces.

La protection est moindre chez l'espèce caprine par rapport à l'espèce ovine pour un même vaccin.

En effet, THOMSON et BATTY, en 1958, estiment qu'un taux supérieur à 0,1 unité d'antitoxine est suffisant pour avoir une bonne protection vaccinale cependant pour les caprins, il faut 2 à 3 injections pour atteindre ce taux de protection. Elle est à l'origine de la production d'anticorps de type IgG et IgM [POPOFF M, 1989 ; SONGER O.S, 1987].

Les vaccins sont constitués de plusieurs anatoxines c'est-à-dire des toxines inactivées par la chaleur ou l'adjonction de produits chimiques tout en gardant leur pouvoir immunogène.

De nos jours, la plupart des vaccins sont polyvalents de 2 à 8 valences.

Ils présentent l'avantage de protéger l'animal contre les différentes clostridies toxinogènes. Les vaccins utilisés sont aussi protecteurs contre les toxines de *C. septicum*, *C. oedematiens*, *C. novyi*, *C. tetani*, *C. chauvoei* [POPOFF M et al, 1994].

Le protocole vaccinal est identique d'un type de vaccin à l'autre ; une primovaccination est réalisée par deux injections à 3-4 semaines d'intervalles, puis un rappel annuel est nécessaire.

Les femelles gestantes sont vaccinées 2 à 6 semaines avant la mise basse. Cette protection est efficace pour le nouveau-né lors de la prise du colostrum.

Les jeunes issus de mères vaccinées ont une première injection à la huitième semaine, à la différence de ceux issus de mères non vaccinées dont la vaccination a lieu à la deuxième semaine.

On considère qu'une bonne protection immunitaire est établie chez les caprins si le protocole vaccinal prévoit un rappel tous les 4 mois [UZAL F.A et al, 2004].

La vaccination met en place une immunité à seuil. Cela signifie que la maladie pourra se développer si les toxines produites sont supérieures en quantité aux anticorps produits. La vaccination peut s'avérer insuffisante lors d'entérotoxémie.

En effet, les vaccins commercialisés ne prennent pas en compte les toxines β_2 et l'entérotoxine (CPE), ce qui pose problème pour la toxine β_2 , qui est impliquée dans de nombreux cas d'entérotoxémies bovines [MANTECA C et al, 2002].

Tableau 7 : Récapitulatif des principaux vaccins commercialisés pour la prophylaxie sanitaire des entérototoxicités (Dictionnaire des Médicaments Vétérinaires 2005)

Vaccins ND	Propriétés	Composition	Indications	Protocole Vaccinal
<p>SERANAMIX® (CEVA santé animale)</p>	Inactivé, formolé et adjuvé, composé de souches sélectionnées pour leur haut pouvoir immunogène et d'antitoxines purifiées et concentrées	Antitoxines : β de <i>Clostridium perfringens</i> type C, ϵ de <i>C. perfringens</i> type D, de <i>C. novyi</i> B, de <i>C. septicum</i> , de <i>C. tetani</i> Anaculture d' <i>Escherichia coli</i> B41 K99	Ovins, caprins et lapins, prévention des toxico-infections dues aux anaérobies les plus fréquents en particulier, prévention de l'entérototoxicité de l'agneau de 100 jours, prévention du tétanos, colibacillose néonatale du jeune en relation avec l'antigène d'adhérence K99.	<p>Primovaccination : en milieu sain : 2 injections à 21 jours d'intervalle, en milieu contaminé : 2 injections à 48 heures d'intervalle.</p> <p>Rappel : annuel en milieu sain, tous les 6 mois en milieu contaminé.</p> <p>Animaux en gestation : la 2^e injection doit être faite 1 mois avant la mise bas</p>
<p>COGLAMUNE® (CEVA santé animale)</p>	Inactivé adjuvé utilisé pour l'immunisation contre les toxico-infections à <i>Clostridium perfringens</i>	Antitoxine α , β et ϵ de <i>Clostridium perfringens</i>	Bovins, ovins, caprins, porcins et lapins : prévention des clostridioses à <i>Clostridium perfringens</i> de type A, B, C et D	
<p>COGLAVAX® (CEVA santé animale)</p>	Lutte contre les toxico-infections à clostridies	Antitoxines de <i>Clostridium perfringens</i> α , β et ϵ , de <i>C. septicum</i> , de <i>C. oedematiens</i> (ou <i>novyi</i>), de <i>C. tetani</i> et d'anaculture de <i>C. chauvoei</i>	Bovins, ovins, caprins et lapins : prévention des entérototoxicités, de l'œdème malin de la caillette, de l'hépatite infectieuse nécrosante, du tétanos et des gangrènes gazeuses.	<p>Primovaccination : - 2 injections séparées de 4 à 6 semaines</p> <p>-Rappel annuel</p>
<p>MILOXAN® (MERIAL SAS)</p>	Lutte contre les infections à germes anaérobies	Anatoxines de <i>Clostridium perfringens</i> β et ϵ (type B, C et D), <i>C. septicum</i> , <i>C. novyi</i> , <i>C. tetani</i> , de <i>C. sordellii</i> et anaculture de <i>C. chauvoei</i>	Bovins, ovins et caprins : entérototoxicités, charbon symptomatique, œdème malin de la caillette, hépatite infectieuse nécrosante, tétanos et gangrènes gazeuses	<p>Animaux en gestation : la seconde injection de primo vaccination ou rappel 2 à 6 semaines avant la mise bas</p>
<p>TASVAX® <i>Huit</i> (SHERING-PLOUGH vétérinaire)</p>	Lutte contre les toxico-infections à clostridies	Anatoxines de <i>Clostridium perfringens</i> α , β et ϵ , <i>C. oedematiens</i> type B, <i>C. septicum</i> , <i>C. tetani</i> et anaculture de <i>C. chauvoei</i>	Bovins, ovins et caprins : entérototoxicités, charbon symptomatique, gangrènes gazeuses, tétanos, hépatite infectieuse nécrosante, œdème malin de la caillette.	<p>Jeunes issus de mères vaccinées : vaccination à partir de 8 semaines</p> <p>Jeunes issus de mères non vaccinées : vaccination à partir de 2 semaines</p>
<p>COVEXIN 10® (SHERING-PLOUGH vétérinaire)</p>	Lutte contre les Clostridioses	Anatoxines : <i>C. perfringens</i> α , β et ϵ , <i>C. novyi</i> , <i>septicum</i> , <i>tetani sordellii</i> , <i>hemolyticum</i> et anaculture <i>C. chauvoei</i>	Bovins, ovins et caprins : Entérototoxicité et tétanos	

CONCLUSION

L'entérotoxémie est une affection des ruminants aboutissant la plupart du temps à une mort subite. L'agent principal de cette maladie est *Clostridium perfringens*. Cette bactérie commensale de l'intestin grêle produit des toxines, responsables de la mort de l'animal et des lésions observées à l'autopsie, lors de sa multiplication. Les bases épidémiologiques, cliniques et nécropsiques ne sont pas suffisantes pour établir un diagnostic de certitude d'entérotoxémie. Cette suspicion d'entérotoxémie nécessite une confirmation par des méthodes de laboratoire. Le diagnostic bactériologique repose sur le dénombrement dans le contenu de l'intestin grêle de *Clostridium perfringens*. Dans la littérature, les valeurs de référence admises pour établir un diagnostic d'entérotoxémie sont variables en fonction du délai entre la mort du ruminant et l'analyse bactériologique. En conséquence, il semble nécessaire de vérifier si cette méthode est utilisable pour un diagnostic dans un délai de 24 heures post-mortem. Il nous paraît également utile de s'intéresser à l'influence du site de prélèvement et à la durée de conservation de celui-ci.

BIBLIOGRAPHIE

- 1- ABDEL SALAM I.S., EL SANOUSI S.M. Proposed scheme for isolation and identification of *Clostridium perfringens* and *Clostridium perfringens*-like organisms. Revue Elev. Méd. Vét. Pays Trop., 1991, 44(2):153-158
- 2- AL-MASHAT R.R., TAYLOR D.J. Bacteria in enteric lesions of cattle. Vet. Rec., 1983, 112:5-10
- 3- AL-MASHAT R.R., TAYLOR D.J. Production of diarrhoea and enteric lesions in calves by the oral inoculation of pure cultures of *Clostridium sordellii*. Vet. Rec., 1983, 112:141-146
- 4- AL-MASHAT R., TAYLOR J. *Clostridium sordellii* in enteritis in an adult sheep, Vet. Rec., 1983, 112:19
- 5- BAILLEUL M.N. Etude diagnostique et pathogénique des entérotoxémies chez les bovins, Thèse de doctorat vétérinaire, faculté de médecine de créteil, 1982, 79
- 6- BERRY P.R., RODHOUSE J.C., HUGHES S., BARTHOLOMEW B.A., GILBERT R.J. Evaluation of ELISA, RPLA, and Vero cell assays for detecting *Clostridium perfringens* enterotoxin in faecal specimens, J. Clin Pathol, 1988, 41:458-461
- 7- BILLINGTON S.J., WIECKOWSKI E.U., SARKER M.R., BUESCHEL D., SONGER J.G., McCLANE B.A. *Clostridium perfringens* type E animals enteritis isolates with highly conserved, silent enterotoxin gene sequences. Infection and immunity, 1998, vol 66, 9:4531-4536
- 8- BOUREAU H., COLLIGNON A., BARC M.C., KARJALAINEN T., BOURLIOUX P. Flore digestive et *Clostridium difficile* modèle expérimental d'étude de l'écologie microbienne et de la pathogénicité. Bull. Acad. Vet. de France, 1994, 67:55-62
- 9- BOURLIOUX P. Les anaérobies dans l'écosystème microbien du tractus digestif. Med. Mal. Infect., 1990, 20:51-52
- 10- BRONZI D. Pathologie ovine Les entérotoxémies. L'Action Vétérinaire n°1608. 2002
- 11- BUNTING M., LORANT D.E., BRYANT A.E., ZIMMERMAN G.A., McINTYRE T.M., STEVENS D.L., PRESCOTT S.M. Alpha toxin from *Clostridium perfringens* induces proinflammatory changes in endothelial cells, J. Clin. Invest., 1997, 100(3):565-574
- 12- BUOGO C., CAPAUL S., HANI H., FREY J., NICOLET J. Diagnostic of *Clostridium perfringens* type C enteritis in pigs using a DNA amplification technique (PCR), J. Vet. Med., 1995, 42:51-58
- 13- BUXTON D., MORGAN K.T. Studies produced in the brains of colostrums deprived lambs by *Clostridium welchii* typhoid toxin. Jour. of Comp. Pathol., 1976, 435-447
- 14- CARTER G.R., COLE J.R. Clostridium, Diagnostic procedures in veterinary bacteriology and mycology, fifth edition, 1990, 620p
- 15- CONTREPOIS M., GOUET PH. La microflore du tube digestif du jeune veau préruminant: dénombrement de quelques groupes bactériens à différents niveaux du tube digestif. Ann. Rech. Vet., 1973, 4(1):161-170
- 16- COTTEREAU PH., GILBERT H., JOUBERT L., OUDAR J., PIERRE M. Deux cas

d'entérotoxémie bovine à *Clostridium sordellii*. Rev. Med. Vet., 1962, 113:34-40

17- COTTEREAU PH. Toxi-infections provoquées par des aliments infectés par des anaérobies notamment par *W. perfringens* et *W. agni*. Bull. Off. Int. Epiz., 1967, 67(9-10):1293-1306

18- DAUBE G. *Clostridium perfringens* et pathologies digestives. Ann. Med. Vet., 1992, 136 :5-30

19- DAUBE G, SIMON P, LIMBOURG B, MANTECA, MANI, KAECKENBEECK A
Clostridium perfringens vet.Res, 1996,57(4)

20- DE JONG A.E.I., ROMBOUTS F.M., BEUMER R.R. Behavior of *Clostridium perfringens* at low temperatures. Int. Jour. of Food Microbiol., 2004, 97:71-80

21- DUCLUZEAU R., RAIBAUD P. Les interactions bactériennes dans le tube digestif. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz., 1989, 8(2):291-311

22- EBERT E., OPPLING V., WERNER E., CUSSLER K. Development and prevalidation of two different ELISA systems for the potency testing of *Clostridium perfringens* β and ϵ toxoid containing veterinary vaccines. FEMS Imm. and medical Micro., 1999, 24:299-311

23- EL IDRISSE A.H., WARD G.E. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of *Clostridium perfringens* enterotoxemia. Vet. Microbiol., 1992, 31(4):389-396

24- ENGLISH J.E. Field experience with *Clostridium* enterotoxemia in young animals. J.A.V.M.A., 1966, 149(12):1565-1570

25- ESPINASSE J. Les maladies à anaérobies des bovins. Bull. des G.T.V., 1980, 6:33-41

26- FERNANDEZ MIYAKAWA M.E., IBARRA C.A., UZAL F.A. In vitro effects of *Clostridium perfringens* type D epsilon toxin on water and ion transport in ovine and caprine intestine. Anaerobe, 2003, 9:145-149

27- FREY J. Toxines clostridiennes : pathogénie, implications cliniques, diagnostiques et preventives. Cycle de réunions des entérotoxémies, 2003

28- GARDNER D.E. Pathology of *Clostridium welchii* type D enterotoxaemia I. Biochemical and haematological alterations in lambs. J Comp Pathol. 1973, 83(4):499-507

29- GARDNER D.E. Pathology of *Clostridium welchii* type D enterotoxaemia. II. Structural and ultrastructural alterations in the tissues of lambs and mice. J Comp Pathol. 1973, 83(4):509-24

30- GARDNER D.E. Pathology of *Clostridium welchii* type D enterotoxaemia. III.Basis of the hyperglycaemic response, J Comp Pathol. 1973, 83(4):525-9.

31- GIBERT M., JOLIVET-RENAUD C., POPOFF M. Beta 2 toxin, a novel toxin produced by *Clostridium perfringens*. Gene, 1997, 20:65-73

32- GKIOURTZIDIS K., FREY J., BOURTZI-HATZOPOULOU E., ILIADIS N., SARRIS K. PCR detection and prevalence of α , β 1, β 2, ϵ , ι and enterotoxin genes in *Clostridium perfringens* isolated from lambs with clostridial dysentery. Vet. Microbiol., 2001, 8:39-43

33- GLOCK R.D., DEGROOT B.D. Sudden death of feedlot cattle. J. Anim. Sci., 1998, 76:315-319

- 34- GRECO G., MADIO A., BUONAVOGLIA D., TOTARO M., CORRENTE M., MARTELLA V., BUONAVOGLIA C. *Clostridium perfringens* toxin-types in lambs and kids affected with gastroenteric pathologies in Italy. Vet. Journal, 2005, 170:346-350
- 35- GREEN S., GREEN M.J., HILLYER M.H., MORGAN K.L. Injection site reactions and antibody responses in sheep and goats after the use of multivalent clostridial vaccines. Vet. Rec., 1987, 120:435-439
- 36- GREENHAM L.W., HARBER C., LEWIS E., SCULLION F.T. *Clostridium perfringens* in pelleted feed. Vet. Rec., 1987, 12:557
- 37- GRINER L.A., BRACKEN K.F. *Clostridium perfringens* (type C) in acute hemorrhagic enteritis of calves. J.A.V.M.A., 1953, 99-102
- 38- GRINER L.A. Enterotoxemia of sheep. I. Effects of *Clostridium perfringens* type D toxin on the brains of sheep and mice. Am. J. Vet. Res., 1961, 429-442
- 39- GRINER L.A., M.D.V., D.Ph., CARLSON W.D. Enterotoxemia of sheep. II. Distribution of I¹³¹ radioiodinated serum albumin in brains of *Clostridium perfringens* type D intoxicated lambs. Am. J. Vet. Res., 1961, 443-446
- 40- GRISEMER R.A., KRILL W.R. Enterotoxemia in beef calves 30 years' observation. J.A.V.M.A., 1962, 140(2):154-158
- 41- HEPPLER J.R. Necrotic enterotoxaemia in a calf due to *Clostridium welchii* type B. Vet. Rec., 1952, 6:633-635
- 42- JARRIGUE R. Principes de la nutrition et l'alimentation des ruminants. Besoins alimentaires des animaux. Valeur nutritive des aliments, Institut National de la Recherche Agronomique, 2nd édition, 1980, 621p
- 43- JOUBERT L., PAPAGEORGIOU C. Epizootologie et prophylaxie des infections anaérobies endogènes des animaux, Bull. Off. Int. Epiz., 1967, 67(9-10):1361-1377
- 44- KADRA B., GUILLOU J.P., POPOFF M., BOURLIOUX P. Typing of sheep clinical isolates and identification of enterotoxigenic *Clostridium perfringens* strains by classical methods and by polymerase chain reaction (PCR). FEMS Immun. and Med. Microbiol., 1999, 24:259-266
- 45- LATOUR P., Les entérotoxémies chez les bovins : bilan bibliographique et contribution à l'amélioration du diagnostic nécropsique et bactériologique, Thèse de doctorat vétérinaire, Lyon, 2004, 174
- 46- LEFEVRE P.C., BLANCOU J., LHERMITTE R. Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail : Europe et régions chaudes 2. 2003, 1064-1072
- 47- LEOHARD L., Actualités bibliographiques, Thèse de doctorat vétérinaire, Lyon, 2004, 96
- 48- NAIK H.S., DUNCAN C.L. Rapid detection and quantitation of *Clostridium perfringens* enterotoxin by counter-immuno-electrophoresis, Appl. Microb., 1977, 34:125-128
- 49- NAGAHAMA M., KOBAYASHI K., OCHI S., SAKURAI J. Enzyme-linked immunosorbent assay for rapid detection of toxins from *Clostridium perfringens*. FEMS Microbiol Lett., 1991, 68(1):41-4

- 50- NAYLOR R.D., MARTIN P.K., SHARPE R.T. Detection of *Clostridium perfringens* epsilon toxin by ELISA. Res. in Vet. Sci., 1987, 42:255-256
- 51- NAYLOR R.D., MARTIN P.K., BARKER L.T. Detection of *Clostridium perfringens* α toxins by enzyme-linked immunosorbent assay. Res. in Vet. Sci., 1997, 63:101-102
- 52- NAYLOR R.D., MARTIN P.K., BARKER L.T. Detection of *Clostridium perfringens* α toxin by enzyme-linked immunosorbent assay. Res. in Vet. Sci., 1997, 63:101-102
- 53- NAYLOR S.W., GALLY L.D., LOW J.C. Enterohaemorrhagic *E. coli* in veterinary medicine. Int. Jour. of Med. Microbiol., 2005, 295:419-441
- 54- NEUT C., ROMOND C., DUBREUIL L. Comparaison des taux d'isolement des anaérobies stricts dans les prélèvements cliniques à l'aide de milieux sélectifs. Med. Mal. Infect., 1990, 20:89-92
- 55- NILO L. Effect on calves of the intravenous injection of the enterotoxin of *Clostridium welchii* type A. Jour. of Comp. Pathol., 1973, 83(2):265-269
- 56- NILO L. *Clostridium perfringens* in animal disease: a review of current knowledge. Can. Vet. J., 1980, 21:141-148
- 57- MANTECA CH., DAUBE G. Etude de l'entérotoxémie bovine en Belgique I. Introduction et contexte bibliographique, Ann. Med. Vet., 1994, 138 :155-164
- 58- MANTECA C., KAECKENBEECK A. Des postulats de Koch à l'entérotoxémie bovine : petites histoires et vieux papiers. Ann. Med. Vet., 2000, 144:405-408
- 59- MANTECA C., DAUBE G., JAUNIAUX T., LIMBOURG B., KAECKENBEECK A., MAINIL J.G. Etude de l'entérotoxémie bovine en Belgique. II. Epizootologie élémentaire et pathologie descriptive. Ann. Med. Vet., 2000, 145:75-82
- 60- MANTECA C., DAUBE G., PIRSON V., LIMBOURG B., KAECKENBEECK A., MAINIL J.G. Bacterial intestinal flora associated with enterotoxaemia in belgian blue calves. Vet. Microbiol., 2001, 81:21-32
- 61- MANTECA C., JAUNIAUX T., DAUBE G., CZAPLICKI G., MAINIL J.G. Isolation of *Clostridium perfringens* from three neonatal calves with haemorrhagic abomasitis. Revue Med. Vet., 2001, 152(8-9):637-639
- 62- MANTECA C., DAUBE G., JAUNIAUX T., LINDEN A., PIRSON V., DETILLEUX J., GINTER A., COPPE P., KAECKENBEECK A., MINIL J.G. A role for the *Clostridium perfringens* β 2 toxin in bovine enterotoxaemia? Vet. Microbiol., 2002, 86:191-202
- 63- MARCHAL N., BOURDON J.L., RICHARD C. Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Doin, Paris, 1991, 509p
- 64- MARTIN P.K., NAYLOR R.D. A latex agglutination test for the qualitative detection of *Clostridium perfringens* epsilon toxin. Res. in Vet. Sci., 1994, 56:259-261
- 65- MARTINEZ R.D., WILKINS T. Purification and characterisation of *Clostridium sordellii* hemorrhagic toxin and cross-reactivity with *Clostridium difficile* cytotoxin. Infect. Imm., 1998, 56:1215-1221
- 66- MEER R.R., SONGER G. Multiplex polymerase chain reaction assay for genotyping *Clostridium perfringens*. Am. J. Vet. Res., 1997, 58(7):702-705

- 67- MIYAKAWA F.M.E., UZAL F.A. The early effects of *Clostridium perfringens* type D epsilon toxin in ligated intestinal loops of goats and sheep. *Vet. Res. Commun*, 2003, 27(3):231-241
- 68- MORGAN K.T., KELLY B.G., BUXTON D. Vascular leakage produced in the brains of mice by *Clostridium welchii* type D toxin. *Jour. of Comp. Pathol.*, 1975, 85(3):461-466
- 69- PETIT L., GIBERT M., POPOFF M.R. *Clostridium perfringens*: toxinotype and genotype, *Trends Microbiol.*, 1999, 7:104-110
- 70- PHILIPPEAU C., GONCALVES S., JULLIAND V. Diagnostic bactériologique des entérotoxémies. *Le Point Vétérinaire*, 2003, 237:12-13
- 71- PHILIPPEAU C., JULLIAND V., GONCALVES S. La place des entérotoxémies dans les morts subites en élevage charolais. *Journées Nationales G.T.V.*, Nantes 2003
- 72- PICARD P., PHILIPPEAU C., JULLIAND V., MATHEVET P. Les entérotoxémies chez les bovines charolais de Bourgogne: les leçons de cinq ans d'étude. *Bull. des G.T.V.*, 2005, 31:39-43
- 73- POPOFF M.R. Purification and characterisation of *Clostridium sordellii* lethal toxin and cross-reactivity with *Clostridium difficile* cytotoxin. *Infect. Imm.*, 1987, 55:35-43
- 74- POPOFF M. Les entérotoxémies. *Revue Med. Vet.*, 1989, 140 :479-491
- 75- POPOFF M. Les affections à clostridium chez les ovins. *Bull.GTV*, 1994, 3 :43-50
- 76- POPOFF M.R. Entérotoxines bactériennes: structure, mode d'action et approche vaccinale. *Revue Med. Vet.*, 1996, 147(6):425-438
- 77- RAMISSE J., BREMENT A.M., POIRIER J.C., RABREAUD C., SIMONNET P. Flore microbienne isolée au cours de diarrhées néo-natales mortelles chez le veau, l'agneau et le porcelet. *Revue Med Vet.*, 1979, 130(1):111-122
- 78- RICHARDS S.M., HUNT B.W. *Clostridium sordellii* in lambs. *Vet. Rec.*, 1982, 22
- 79- ROEDER B.L., CHENGAPPA M.M., NAGARAJA T.G., AVERY T. Isolation of *Clostridium perfringens* from neonatal calves with ruminal and abomasal tympany, abomasitis, and abomasal ulceration. *J.A.V.M.A.*, 1987, 190, 1550-1555
- 80- ROSE A.L., EDGAR G. Enterotoxaemic jaundice of sheep and cattle. *Aus.Vet.J.*, 1936, 36, 212-220
- 81- SAVAGE D.C., DUBOS R., SCHAEGLER R.W. The gastrointestinal epithelium and its autochthonous bacterial flora. *Jour. of Exp. Med.*, 1967, 127:67-76
- 82- SAVAGE D.C. L'écosystème digestif et sa colonisation. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 1989, 8(2):275-290
- 83- SAWIRES Y.S., SONGER J.G. *Clostridium perfringens*: insight into virulence evolution and population structure. *Anaerobe*, 2005, 11:303-324
- 84- SCHELCHER F., CABANIE P. Principales causes de mort subite des bovins, *Le Point Vétérinaire*, 2002, 228 : 20-26
- 85- SEBALD M. Pathogénicité des bactéries anaérobies. *Med. Mal. Infect.*, 1990, 20:13-14
- 86- SEDALLIAN A. Isolement et identification des bactéries anaérobies strictes. Principaux germes isolés de produits pathologiques. *Med. Mal. Infect.*, 1990, 20:83-88

- 87- SHIRLEY G.N. Clostridial enteritis in cattle. Vet. Rec., 1958, 70(23):478-780
- 88- SMITH B.P., Diseases caused by *Clostridium perfringens* toxins, Large animal internal medicine. Diseases of horses, cattle, sheep and goat, 2nd edition, 1996, 2040p, 768-771
- 89- SONGER O.S., SONGER M.J., HILLYER M.H., MORGAN K.L. Injection site and antibody responses in sheep and goats after the use of multivalent clostridial vaccines, Vet. Rec., 1987, 2:435-439
- 90- SONGER J.G. Clostridial enteric diseases of domestic animals. Clin. Microbiol. Rev., 1996, 216-234
- 91- SONGER J.G., MISKIMMINS D.W. *Clostridium perfringens* type E enteritis in calves: two cases and a brief review of the literature. Anaerobe, 2004, 10:239-242
- 92- SONGER J.G., MISKIMMINS D.W. Clostridial abomasitis in calves: Case report and review of the literature. Anaerobe, 2005, 11:290-294
- 93- STAMATIN N., UNGUREANU C. Epizootologie des clostridioses. Bull. Off. Int. Epiz., 1967, 67(9-10):1251-1292
- 94- STARK R.L., DUNCAN C.L. Purification and biochemical properties of *Clostridium perfringens* type A enterotoxin, Inf. Imm., 1972, 5:662-673
- 95- TARTERA P. Les entérotoxémies des ruminants. L'Action Vétérinaire n°1524. 16 juin 2000
- 96- THOMAS P.I., DOWNEY N.E., DREADON R.S. Mortality in lambs due to enterotoxaemia associated with heavy infestations of *Moniezia expansa*. NZ Vet. J., 1956, 14:161-5
- 97- TIGAUD S., JOUVE M., IERMANN N., COMBE P. Identification et typage intra-espèces des clostridies ; Electrophorèse des extraits protéiques totaux sur gel de polyacrylamide. Med. Mal. Infect., 1990, 20:93-96
- 98- TITBALL R.W., NAYLOR C.E., BASAK A.K. The *Clostridium perfringens* α -toxin, Anaerobe, 1999, 5:51-64
- 99- VAIKOSEN E.S., IKHATUA U.J. Detection of high level of enterotoxin of *Clostridium perfringens* types C and D in small ruminants. Small Ruminant Research, 2005, 58:287-290
- 100- VERON M., LE MINOR L. *Clostridium*, Bactériologie médicale 2nd édition, 1989, 1107p
- 101- UZAL F.A., KELLY W.R., MORRIS W.E., ASSIS R.A. Effects of intravenous injection of *Clostridium perfringens* type D epsilon toxin in calves. J. Comp. Path., 2002, 126:71-75
- 102- UZAL F.A., Diagnosis of *Clostridium perfringens* intestinal infections in sheep and goats, Anaerobe, 2004, 10:135-143
- 103- WALKER R. L., HIRSH D. C., MACLACHLAN N.J. *Clostridium*, Veterinary microbiology 2nd édition, 2004, 535p

