

Les clostridiaceae dans la pathologie du bétail Observations de laboratoire

par J.-P. GUILLOU (*) et L. CHEVRIER (*)

M. CHEVRIER. — Les clostridiaceae pathogènes renferment, avec les plectridiaceae, l'ensemble des germes anaérobies sporulés pathogènes. Ces germes présentent une grande importance en pathologie animale en raison du nombre et de la gravité des affections qu'ils peuvent provoquer. Celles-ci peuvent revêtir plusieurs aspects :

— Celui de myosites consécutives à un traumatisme. Elles sont actuellement exceptionnelles, visibles et de ce fait une thérapeutique peut être habituellement instaurée avant l'apparition des symptômes.

— Celui de toxi-infections alimentaires, fréquentes chez les animaux jeunes et les adultes bien portants et dont il faut rechercher l'étiologie dans des transitions alimentaires brutales ou une alimentation trop riche en protides.

— Celui, enfin, de complication d'une affection bactérienne évolutive ou d'un parasitisme traumatique.

— Les variations du pouvoir pathogène des germes selon l'espèce animale atteinte, la disparité fréquente entre les pouvoirs pathogènes naturel et expérimental selon les souches bactériennes, l'inconstance de l'isolement des germes dans les organes des animaux morts, le dimorphisme des germes de ce groupe, les différences observées dans leurs exigences nutritionnelles et dans les conditions de leur sporulation, font des clostridiaceae un sujet d'étude du plus grand intérêt. Nous limiterons toutefois cet exposé aux observations qui ont été faites dans le service de bactériologie du Laboratoire Vétérinaire de Maisons-Alfort au cours des quatre dernières années.

(*) Laboratoire Central de Recherches Vétérinaires de Maisons-Alfort (Directeur : L. DHENNIN).

MATÉRIEL ET MÉTHODE

Les conditions d'anaérobiose sont réalisées dans une jarre close (*) avec de l'hydrogène pur introduit sous pression négative.

Les milieux liquides sont réduits par passage au bain-marie bouillant pendant 20 à 30 mn. Les milieux solides sont soumis, avant leur ensemencement, à une incubation préalable de 2 à 3 h à 37 °C en atmosphère d'hydrogène.

Les prélèvements sont systématiquement ensemencés sur bouillon VF glucosé. Après contrôle bactérioscopique des caractères morphologiques de la culture, l'isolement est réalisé sur milieux au sang et au jaune d'œuf (**) enrichi (***).

Les études biochimiques en milieux liquides sont effectuées selon le schéma de MOORE (4, 5) et celles de la sporulation de *Cl. perfringens* ont été décrites par DUCAN et STRONG (2).

Les toxines hémolytiques sont identifiées en milieu gélifié sur hématies de mouton et hématies de cheval en présence des sérums anti-correspondants et sous anaérobiose stricte. Elles sont également étudiées en solution tampon borate à pH 8 et tampon thio-glycolate à pH 6,5 selon la méthode de BROOCKS (1).

L'action protéolytique est recherchée vis-à-vis de la caséine, de la sérum albumine fraction V et du sérum de bovin coagulé par la chaleur. Les gélatinases sont mises en évidence en suivant la technique de GREENE et CLARKS (3) en présence de chlorure de calcium (****).

ESPÈCES BACTÉRIENNES ISOLÉES

Le tableau 1 rassemble les différentes espèces bactériennes anaérobies isolées chaque année de 1971 à 1974.

(*) « Anaérobie jar » BTL commercialisé par Dannat France.

(**) « Columbia blood agar » Oxoid.

(***) « Fildes extract » Oxoid.

(****) « Charcoal Gelatin discs » Oxoid.

TABLEAU I

Nombre et répartition des germes anaérobies isolés de 1971 à 1974

	1971	1972	1987	1974	Total
<i>Cl. perfringens</i>	33	31	32	18	114
<i>Cl. septicum</i>	5	3	1	0	9
<i>Cl. chauvei</i>	0	1	0	0	1
<i>Cl. oedematiens</i>	0	0	3	0	3
<i>Cl. bifermentans</i>	1	0	0	1	2
<i>Cl. sordelli</i>	1	1	1	0	3
<i>Cl. pathogènes</i> (non identifiés) ...	3	0	0	0	3
<i>Cl. non pathogènes</i>	19	6	4	2	31
<i>Cl. sporogènes</i>	0	0	1	0	1
<i>Plactridium</i>	1	0	0	0	1
Total	63	42	42	21	168
Nombre de prélèvements examinés	466	335	316	236	1.353

Nous avons fait figurer *Cl. bifermentans* (non pathogène) dans ce tableau car les caractères morphologiques, cultureux et biochimiques habituels sont insuffisants pour séparer *Cl. bifermentans* de *Cl. sordelli* et le diagnostic différentiel de ces deux bactéries repose sur la présence ou non de toxine. La toxinogénèse étant variable, la seule épreuve permettant de séparer ces deux espèces est la mise en évidence d'une activité uréasique (6). Nous avons donc identifié à *Cl. bifermentans* toute souche uréase négative ou faible et lente et *Cl. sordelli* les souches ayant une activité uréasique forte et rapide.

L'examen des colonnes du tableau 1 ne montre pas de différence notable dans le total et la répartition des espèces bactériennes isolées d'une année sur l'autre. Il est donc possible de la réunir.

L'examen des lignes du même tableau fait apparaître l'importance de *Cl. perfringens* qui représente 70 p. 100 environ du total des germes isolés. *Cl. septicum* suit d'assez loin (6 p. 100). 31 germes ne sont pas pathogènes. Ils figurent seulement dans ce relevé pour montrer l'importance de la flore de sortie anaérobique (20 p. 100). Trois germes pathogènes n'ont pu être identifiés. Le total des germes anaérobies pathogènes (134) représente 10 p. 100 du total des prélèvements examinés (1.353).

ESPÈCES ANIMALES INTÉRESSÉES

Le tableau 2 mentionne les différentes espèces d'animaux d'élevage sur lesquelles les germes anaérobies pathogènes ont été isolés.

TABLEAU II

Répartition des Clostridiales isolées sur le bétail de 1971 à 1974

	Bovins	Ovins	Caprins	Porcins	Equins
<i>Cl. perfringens</i>	60	29	4	16	5
<i>Cl. septicum</i>	6	3			
<i>Cl. oedematiens</i>	1	2			
<i>Cl. chauvei</i>	1				
<i>Cl. sordelli</i>	2	1			
<i>Cl. bifermentans</i>	2				
<i>Cl. pathogènes</i> (non identifiés)	4	4	1	1	
Total	76	39	5	17	5
Nombre de prélèvements examinés	689	214	45	331	74

Le taux des Clostridiales varie de 6 p. 100 (porcins-équins) à 18 p. 100 (ovins).

L'éventail des espèces bactériennes identifiées est plus vaste pour les espèces bovine et ovine que pour les autres espèces animales, en raison du plus grand nombre de prélèvements examinés dans ces deux espèces.

Cl. perfringens est responsable de septicémies et de toxoinfections chez les bovins, d'entérotoxémie dans l'espèce ovine et de gastro-entérite chez le porc. La fréquence de ce germe dans cette dernière espèce est due au fait que les symptômes nerveux qu'il provoque sont souvent confondus avec ceux de la peste porcine, affection pour laquelle le Laboratoire d'Alfort reçoit souvent des prélèvements.

Cl. septicum est l'agent, dans toutes les espèces animales, de myosites consécutives à des plaies ou traumatismes. Il est également l'agent de septicémies et de certaines entérotoxémies ovines.

Cl. oedematiens est également responsable de viscérités animales, de phlegmons consécutifs à des plaies et d'une entérotoxémie particulière des moutons.

Cl. chauvei est classiquement l'agent du charbon symptomatique des bovins, myosite volumineuse consécutive la plupart du

temps à un traumatisme. Nous l'avons seulement isolé dans une viscérité ovine.

Cl. sordelli a été rencontré dans une viscérité bovine, une entérotoxémie ovine et une septicémie porcine.

Cl. bifementans est dénué de pouvoir pathogène, mais en association avec d'autres germes (colibacille, staphylocoque) il confère au processus le caractère putride.

Le pouvoir pathogène de ces germes semble analogue puisqu'une entérotoxémie ou un phlegmon gazeux peut être provoqué par la plupart des clostridiaceae. Il est toutefois possible de noter quelques différences cliniques ou épidémiologiques selon les espèces bactériennes. Les mortalités rapides, survenant en quelques heures, affectant des ovins, bovins, porcins en bon état d'entretien, sont dues le plus souvent à *Cl. perfringens*. Les syndromes provoqués par les autres espèces bactériennes ne prennent pas une allure enzootique. Les affections par *Cl. septicum* évoluent en deux à huit jours. Il en est de même pour les ovins atteints par *Cl. oedematiens*, qui présentent de plus, à l'autopsie des altérations profondes du parenchyme rénal. L'observation de tumeurs crépitantes, surtout chez les bovins, signe habituellement la présence de *Cl. chauvei*, mais c'est *Cl. septicum* qui a été isolé.

L'observation des symptômes cliniques et de l'aspect épidémiologique présente l'intérêt de circonscrire l'étiologie infectieuse et d'instaurer une thérapeutique plus spécifique que le sérum antigangréneux polyvalent habituellement utilisé. Il est néanmoins nécessaire de procéder à l'identification du germe pour définir celle-ci et réaliser un antibiogramme dont le choix est, au départ, limité par le caractère d'anaérobiose du germe à atteindre.

DISCUSSION. — Il y a quelques années, la recherche et l'identification des germes anaérobies étaient réalisées de façon rudimentaire. Les ensemencements étaient faits sur bouillon VF ou MARTIN et l'identification souvent erronée en raison des associations bactériennes, nécessitait des inoculations, donc l'entretien d'une animalerie. Actuellement une meilleure connaissance des besoins énergétiques des germes, la mise au point de milieux d'isolement sélectifs et de milieux d'identification équilibrés, ont permis à de nombreux laboratoires d'entreprendre l'étude des germes anaérobies. Ces techniques et ces milieux se révèlent toutefois insuffisants pour l'étude et l'identification formelle de

certaines espèces bactériennes qui nécessitent des moyens d'investigation approfondis, comme la recherche des métabolites par chromatographie en phase gazeuse. Les travaux importants réalisés dans ce domaine par MOORE (4, 5), permettent d'envisager aisément l'uniformisation du diagnostic de ces germes.

Les résultats exposés ont été obtenus soit à partir de cadavres d'animaux dont l'autopsie et les examens ont été faits dans de bonnes conditions au Laboratoire, soit à partir de prélèvements d'organes qui nous sont parvenus par voie postale ou par chemin de fer. Ces derniers sont souvent défectueux par suite d'un acheminement lent ou d'une conservation insuffisante. Ils recèlent fréquemment une flore bactérienne abondante surajoutée qui peut être une cause d'erreur de diagnostic.

Il semble bien qu'on assiste à la diminution progressive de certaines autres espèces, bien qu'on ne dispose pas en cette matière d'éléments de comparaison valables. *Cl. histolyticum* n'est plus rencontré (les deux dernières souches ont été isolées il y a plus de 5 ans sur un veau et un mouton).

Cl. chauvei est en nette régression sans qu'on sache exactement si le charbon « symptomatique » relève d'une complication traumatique ou d'une infection endogène. Il faut certainement attribuer en partie cette diminution aux progrès réalisés dans la thérapeutique des plaies. En revanche, et ainsi que le constatent SEBALD et CASSIER (7) *Cl. perfringens* est fréquent. Pourtant les analyses peuvent rester négatives ; c'est le cas des toxi-infections alimentaires où le germe n'existe pas, mais seulement sa toxine dans le contenu intestinal. Le second aspect de *Cl. perfringens* est celui des viscérites d'évolution rapide où le cadavre se putréfie rapidement et ne permet pas d'effectuer des prélèvements valables. Il est donc probable que les toxi-infections et les viscérites animales causées par *Cl. perfringens* sont proportionnellement plus importantes que celles qui sont rapportées ici. Il est à noter que tous les typages effectués sur les souches isolées montrent qu'il s'agit de *Cl. perfringens* de type A.

CONCLUSION

Les progrès réalisés en microbiologie par l'utilisation de milieux de culture plus adaptés aux exigences biologiques des germes et l'emploi de méthodes modernes permettent un diagnostic plus rapide et plus précis des infections par les germes anaérobies.

L'étude de ces germes fait apparaître une plasticité de la plupart des espèces bactériennes qui présentent des mutations fréquentes dans leurs caractères antigéniques. Ces modifications n'affectent pas la morphologie et les principaux caractères biochimiques des germes, mais seulement certains aspects de leur métabolisme. Elles peuvent néanmoins avoir une incidence sur les préparations vaccinales issues de ces germes. Leur mise en évidence nécessite des méthodes très précises telle la chromatographie en phase gazeuse.

Les informations relevées sur plusieurs années montrent que 10 p. 100 des animaux succombent à une affection par germe anaérobie. Il est donc nécessaire d'améliorer la prophylaxie et la thérapeutique médicales par une meilleure sélection des souches vaccinales et l'étude des antibiotiques actifs.

Mais la rapidité d'évolution de certaines affections, notamment celles qui sont dues à *Cl. perfringens* rappellent l'importance des précautions hygiéniques comme l'observation d'une diététique stricte comportant des transitions alimentaires progressives.

BIBLIOGRAPHIE

1. BROOCK (E.), STERNE (M.) et HARRIET-WARRACK (G.). — *J. path. Bact.*, 1957, 74, 185-195.
 2. DUCAN et STRONG. — *Appl. Microbiol.*, 1968, 16, 82-89.
 3. GREENE (R. A.), LARKS. — *J. Bact.*, 1955, 69, 224.
 4. HOLDEMAN (Lillian V.), MOORE (W. E. C.) et Coll. — *Anaerobe Laboratory Manual*, 2^e éd., 1973.
 5. MOORE (W. E. C.), CATO (E. P.) et HOLDEMAN (L. V.). — *Int. j. of Syst. Bact.*, 1966, 16, n° 4, 383-415.
 6. TATAKI (H.) et HUET (M.). — *Ann. Inst. Pasteur*, 1953, 5, 890-894.
 7. SEBALD, CASSIER. — *Bull. Inst. Pasteur*, 1970, 68, 7-24.
-