



LEAV 85

Rond Point Georges Duval
CS 80 802

85021 LA ROCHE/YON Cedex

☎ : 02 51 24 51 51

Fax : 02 51 24 51 50

Info : labo@vendee.fr

www.laboratoire.vendee.fr



Les entérotoxémies bovines se manifestent par une mort subite, qui résulte de la résorption dans la circulation sanguine de toxines produites par des bactéries du genre Clostridium (notamment Clostridium perfringens), hôtes commensaux dans l'intestin grêle.

Le botulisme est une toxi-infection d'origine alimentaire caractérisée par des troubles nerveux dominés par une paralysie flasque. Celle-ci résulte de l'ingestion de produits dans lesquels la neurotoxine de Clostridium botulinum est présente, en général associée au germe lui-même.

L'une est très fréquente, notamment chez les veaux non sevrés, tandis que l'autre est diagnostiquée de manière souvent rare chez les bovins.

Les deux maladies sont dues à une toxine produite par les clostridies.

Quels prélèvements effectuer et quel précautions faut-il prendre pour interpréter les résultats des analyses ?

✓ Dans le cas du Botulisme

Quoi et comment prélever ?

La recherche de bactéries se fait **préférentiellement sur contenu digestif**, idéalement au niveau des anses lésées ou congestionnées (jéjunum, iléon).

La recherche de toxine peut s'effectuer sur le contenu digestif, voire plus rarement les liquides d'épanchement. Les recherches sur le sang sont déconseillées en raison du délai entre la production de la toxine et l'apparition des symptômes, où la toxine se trouve alors dans les centres nerveux et non le secteur circulant.

Compte tenu de la fragilité de la toxine (très thermolabile), les prélèvements doivent être fait le plus vite possible (en théorie moins d'une heure après la mort de l'animal) et **conservés à +4°C jusqu'au laboratoire.**

Et après, au Laboratoire...

- ⇒ La **mise en culture** de *Clostridium botulinum* se fait au Laboratoire. Toutefois, le faible nombre de bactéries fait que l'isolement donne souvent des résultats décevants (envahissement par des germes à croissance plus invasive : *Protéus*, *Bacillus*, autres *Clostridies*...).
- ⇒ La présence de *Clostridium botulinum* n'est pas un élément suffisant pour affirmer que le bovin est mort de botulisme car la bactérie peut être hébergée dans le tube digestif de bovins sains. C'est la raison pour laquelle, on complète l'identification bactérienne d'une recherche de la neurotoxine.
- ⇒ La recherche s'effectue par **test d'activité biologique sur souris**, qui est la méthode la plus sensible pour mettre en évidence l'activité toxinique.

Laboratoire de l'Environnement et de l'Alimentation de la Vendée

Entérotoxémies et Botulisme Comme s'y retrouver dans les analyses de laboratoire ?

Remplir des flacons stériles à ras bord avec le simple contenu digestif et les fermer hermétiquement

Prélever des portions de tractus digestif d'environ 15 cm soigneusement ligaturées de manière à préserver l'anaérobiose.

A conserver à +4°C au maximum 24 heures (Pas de congélation)

L'envoi des souches de *Clostridium* au Centre National de Référence des Clostridies permet si besoin de typer la toxine, soit par tests biologiques, soit par identification du fragment génomique potentiellement toxigène.

Le LEAV peut adresser sur demande la souche au CNR (Inst. Pasteur Paris). Le coût approximatif de l'envoi et des recherches est de 180 € HT (*Tarif CNR 2015*).



Au-delà de 15 heures post mortem, l'interprétation du dénombrement des Clostridies est impossible

LEAV 85

Rond Point Georges Duval
CS 80 802

85021 LA ROCHE/YON Cedex

☎ : 02 51 24 51 51

Fax : 02 51 24 51 50

Info : labo@vendee.fr

www.laboratoire.vendee.fr



✓ Dans le cas des Entérotoxémies

Pour les entérotoxémies, **seul le diagnostic post-mortem est possible**. Le diagnostic lésionnel effectué par le vétérinaire praticien demeure un diagnostic de suspicion voire d'exclusion des autres causes de mort subite.

Quoi et comment prélever ?

Deux techniques sont possibles pour le prélèvement, mais dans tous les cas **l'anaérobiose doit être maintenue**.

- Remplir des flacons stériles à ras bord avec le simple contenu digestif et les fermer hermétiquement.
- Prélever et ligaturer des portions de tractus digestif d'environ 15 cm de manière à préserver l'anaérobiose.

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.

Et après, au Laboratoire...

- ⇒ La mise en culture de *Clostridium* se fait rapidement au Laboratoire, et permet d'identifier *Clostridium perfringens* ou *sordelli*.
- ⇒ La présence de *Clostridium sp.* n'est pas un élément suffisant pour affirmer que le bovin est mort d'entérotoxémie. Les travaux menés récemment montrent, effectivement, qu'une concentration élevée en clostridies mesurée sur un animal mort doit être interprétée avec précaution en fonction du délai d'intervention (Voir Tableau Interprétation des résultats). C'est la raison pour laquelle, on recommande d'en effectuer un dénombrement au Laboratoire (de 10⁴ à 10⁸ ufc/ml de contenu intestinal). Dans ce cas, le résultat quantitatif est restitué sur le rapport, sans distinguer *Cl. perfringens* de *Cl. sordelli*.

Grille de diagnostic bactériologique par exclusion des entérotoxémies

Dénombrement (UFC/ml contenu intestinal)	Délai entre le prélèvement et la mort de l'animal (T)			
	T < 3h	3h ≤ T < 6h	6h ≤ T < 15h	15 h > T
< 10 ⁵	Exclu	Exclu	Exclu	Non interprétable
10 ⁵ ≤ n < 10 ⁶	Entérotoxémie	Douteux	Douteux	Non interprétable
10 ⁶ ≤ n < 10 ⁷	Entérotoxémie	Douteux	Douteux	Non interprétable
10 ⁷ ≤ n < 10 ⁸	Entérotoxémie	Entérotoxémie	Douteux	Non interprétable
10 ⁸ ≤ n	Entérotoxémie	Entérotoxémie	Entérotoxémie	Non interprétable

Tarifs des analyses (valables jusqu'au 31/12/2019)

	Méthode	Délai de résultat	Prix HT
Mise en culture et identification de germes anaérobies	Culture anaérobiose	48 à 72 heures maximum	21.73 €
Recherche et dénombrement de <i>Clostridium sp.</i>	Dilution sur boîtes gélosées	24 à 48 heures	18.98 €
Recherche de spores botuliniques	Test d'activité biologique sur souris	8 à 9 jours (5 j culture + 3 à 4 j observation souris)	43.92 €