

Le botulisme expérimental du cheval provoqué par la toxine D

Symptômes, pathogénie, diagnostic, lésions

par J. JACQUET et A.-R. PRÉVOT

Nous avons précédemment exposé (1) (2) l'évolution du botulisme expérimental provoqué chez le cheval par l'absorption buccale ou l'injection de la toxine botulique D provenant de la souche 468, isolée du foie d'un cheval mort de l'affection naturelle (*).

SYMPTÔMES

Les troubles sont toujours apparus brutalement, sans hyperthermie prémonitoire : il se produit régulièrement d'abord une paralysie du train postérieur. Le sujet est généralement trouvé coué plus ou moins léthargique, complètement anorexique. Dans un délai plus ou moins rapide, qui dépend de la durée de la maladie, elle-même fonction de l'état général du sujet et de la dose de toxine, d'autres symptômes sont ensuite observés, qui traduisent eux-aussi l'atteinte des centres nerveux, surtout bulbaires.

Les paralysies du pharynx, de la lèvre inférieure, de la langue, pendante hors de la bouche, sont fréquentes; parfois, au contraire, la langue effectue des mouvements rythmiques de rentrée et de sortie (70 à la minute). La bouche peut rester ouverte. La salive s'écoule lentement et régulièrement en minces filets, le long des commissures des lèvres, rarement avec abondance.

L'arrêt complet, ou tout au moins le ralentissement très prononcé du péristaltisme intestinal est constant. Au début de l'affection, quand l'animal est encore conscient, il peut se regarder le flanc, comme s'il souffrait de coliques. Les mouvements respiratoires sont toujours difficiles; les naseaux sont dilatés en permanence ou bien il se produit une forte dilatation avec chaque inspiration. La paralysie flasque progressive du diaphragme oblige le sujet à compléter, puis à assurer tous les

(*) Le milligramme de cette toxine botulique D 468, que nous avons utilisée dans nos divers essais, correspond lors d'injection sous-cutanée à la souris, non pas à 2.000 doses minima mortelles (DMm), comme cela a été décrit par erreur dans nos notes antérieures à la suite d'une faute de dactylographie, mais bien à 8,000 DMm.

mouvements respiratoires grâce à des contractions des muscles abdominaux; le relâchement brutal du flanc à l'expiration provoque « l'entrecouplement » et il se forme une barre horizontale ou légèrement oblique le long de l'hypocondre (contraction des muscles droits et externes de l'abdomen).

La paralysie atteint parfois le sphincter vésical et l'on aperçoit, chez la jument, l'urine s'écouler en permanence ou par contractions cloniques, le long du périnée.

De temps à autre, enfin, on note aussi des contractions cloniques des muscles du cou et du poitrail (notamment du mastoïdo-huméral) ou des muscles de la croupe.

La mydriase est fréquente et les larmes s'écoulent parfois goutte à goutte. Souvent l'animal appuie sa tête sur le sol de l'écurie par le bout du nez, rappelant ainsi l'attitude si caractéristique de la souris à qui on a injecté de la toxine botulique.

Enfin, signe nouveau mais absolument constant, qui traduit l'atteinte des cellules hépatiques par la toxine, les muqueuses, notamment la muqueuse oculaire, sont congestionnées et ictériques. Cette teinte jaune rouge, de nuance variable, est confirmée à l'autopsie par une couleur citrine généralisée de l'ensemble du cadavre.

Assez rapidement, dans nos essais, l'affection s'est étendue, les mouvements respiratoires devenant de plus en plus rares et difficiles, et la mort est survenue au bout d'un délai variable, mais toujours court (2).

A aucun moment, la maladie n'a paru s'accompagner d'hyperthermie.

PATHOGÉNIE

Sur tous nos chevaux, nous avons constaté le passage extrêmement précoce de la toxine par le courant circulatoire sanguin, avant même que tout symptôme ne soit apparu. Ce transport par le courant sanguin est transitoire (*), et après le déclenchement des symptômes, à moins d'avoir employé des taux élevés de toxine (1 dg), il est difficile parfois de montrer que le sang est toxique pour la souris au taux de 0,5 cm³ injecté par la voie sous-cutanée. Il faut même bien dire, qu'en dehors bien

(*) A titre d'exemple, rappelons que nos chevaux III et IV ont reçu une injection sous-cutanée de 1 cg de toxine purifiée. La toxine a été retrouvée dans le sang du cheval III au taux d'au moins 4 doses minima mortelles pour la souris, au bout de 31 heures après l'injection, au moment même du début de l'évolution symptomatique; chez le Cheval IV, la toxine n'a pu être trouvée dans le sang après 3 heures, mais était présente au taux d'au moins 2 DMm après 24 heures; dès la 48^e heure, on ne pouvait plus la mettre en évidence, et les symptômes ne sont apparus qu'à la 78^e heure.

entendu d'une inondation importante de l'organisme par la toxine — cas du botulisme suraigu expérimental (1) —, il est difficile, pendant la maladie ou même après la mort, de mettre quelque part la toxine en évidence : le liquide céphalo-rachidien ou les centres nerveux paraissent les plus indiqués; mais il faut s'attendre à de nombreux échecs, et sur plusieurs animaux morts de l'affection expérimentale, la recherche de la toxine s'est avérée nulle.

Après avoir ainsi établi d'une façon certaine le mode de cheminement et de diffusion de la toxine dans l'organisme, il aurait été intéressant de résoudre le problème de la pathogénie du botulisme équin : s'agit-il d'une intoxication pure, selon le processus que nous avons réalisé dans nos précédents essais? S'agit-il, au contraire, d'une toxi-infection? Le *Clostridium botulinum* a été isolé plusieurs fois dans le foie de chevaux morts, en France et à l'étranger, mais nous avons totalement échoué à reproduire l'affection sur le cheval n° IV, selon le protocole ci-dessous :

Une culture de 48 heures, de *Clostridium botulinum* D, souche 468, en bouillon VF additionné de réductose, a été centrifugée, lavée au sérum physiologique et recentrifugée 10 fois de suite. Les corps microbiens furent donnés à ingérer à un cheval en mars 1932. Aucun trouble ne se produisit.

Cette expérience a été renouvelée, sur le même cheval, quatre autres fois, à un intervalle variant entre 1 et 2 mois. Or les germes centrifugés et lavés plusieurs fois étaient toujours vivants, et les liquides de lavage renfermaient encore de la toxine : dans un de nos essais, après le dixième lavage, 0,5 cm³ de liquide surnageant tuait encore la souris par voie sous-cutanée. Toutes nos tentatives pour reproduire le botulisme du cheval par ingestion de bacilles ont ainsi été vaines.

Le même cheval a reçu en octobre, par voie sous-cutanée, 1 centigramme de toxine botulinique; la mort s'est produite brutalement, en 28 heures, avec une évolution semblable, mais plus rapide encore que pour nos autres chevaux.

Il est bien difficile d'interpréter une expérience négative, même répétée 5 fois. On peut penser que l'ingestion de *Clostridium botulinum* vivant par un cheval ne suffirait pas à déclencher le botulisme, et qu'il faut en plus des conditions particulières, encore inconnues.

LÉSIONS

Sur les quatre chevaux dont nous avons pu analyser le sang, nous avons constaté la production d'hypoglycémie, qui précède

même le déclenchement des symptômes et persiste ensuite. L'abaissement du taux de glucose est de 0 g 73 à 0 g 32 par litre.

A l'ouverture du cadavre, en dehors de très rares pétéchies, d'un léger œdème citrin intermusculaire au niveau de l'hypochondre ou des muscles de l'encolure, on est frappé par l'importance évidente et la constance de l'ictère. La réaction de Piëtre pratiquée sur les graisses, les liquides synoviaux, les coussinets adipeux articulaires, les tuniques artérielles, est, généralement, extrêmement intense. La coloration jaune ictérique varie, cependant, d'un sujet à l'autre. Elle peut être assez discrète chez certains, frappante chez d'autres, mais on la constate toujours.

L'action vaso-dilatatrice de la toxine botulinique se traduit par l'existence de petites plaques rose violet, de congestion en différents points de l'intestin grêle ou du gros intestin. On constate une congestion de la dure-mère, des plexus choroïdes, avec présence de sang dans le liquide céphalo-rachidien (tous nos chevaux sauf le dernier). Ce signe avait été signalé par L. et H. LAMARRE dans leur étude sur le botulisme naturel du cheval (3). D'autre part, la congestion des méninges et des plexus choroïdes, la présence de sang dans le liquide céphalo-rachidien ont été très fréquemment constatées par l'un de nous sur les chevaux de la Manche et du Calvados *morts* (et non adressés avant la fin de l'évolution à l'abattoir) d'une affection, étiquetée jusque-là, faute de mieux, encéphalomyélite du cheval. En collaboration avec HABERT, ce détail avait été signalé dès 1943 (4). Depuis 1944, sur 8 autopsies pratiquées, nous avons constaté 7 fois l'état hémorragique du liquide céphalo-rachidien dans l'encéphalite du cheval. La présence de sang, résultant d'une ou plusieurs petites hémorragies méningées constatées dans le botulisme, peut expliquer l'inefficacité de la sérothérapie tardive. En admettant que les anticorps injectés aient la possibilité de neutraliser la toxine, ils ne peuvent rien sur les lésions irréversibles graves qui assombrissent le pronostic.

En cas d'enzooties botuliques un peu importantes, dans la défense d'un territoire contre l'agression par toxine botulique, il nous apparaît donc plus prudent de réaliser l'immunisation active d'ordre prophylactique par les anatoxines, plutôt que par la sérothérapie, que l'on doit réserver au traitement curatif, aussi précoce que possible, des cas de botulisme confirmés.

Cependant, l'hémorragie du liquide céphalo-rachidien, pour fréquente qu'elle soit, n'est pas la règle absolue : il est des cas de botulisme naturel ou expérimental (cas de notre cheval

n° IV), où le liquide céphalo-rachidien reste parfaitement clair.

L'action vaso-dilatatrice de la toxine botulique se traduit encore par la présence d'hémorragies microscopiques, décelables seulement par les coupes histologiques, dans le foie, les reins, la rate. Surtout lors d'emploi de fortes doses, on constate, en outre, la présence dans ces organes de pigments noir brun, d'origine hématique, absolument semblables à ceux qui ont été décrits dans l'encéphalomyélite du cheval et que l'on considérerait comme caractéristiques de cette dernière affection.

Les cellules du foie montrent l'existence de foyers de dégénérescence, et le dysfonctionnement hépatique qui en résulte explique l'ictère observé. Dans les centres nerveux, l'action de la toxine provoque une mobilisation cellulaire extrêmement rapide, avec des infiltrations linéaires de lymphocytes et des processus de neuronophagie très nets. Ces lésions sont particulièrement intenses dans les cas de botulisme suraigu, et peuvent, au contraire, être très discrètes dans le botulisme aigu habituel.

L'action si curieuse de la toxine botulique, capable, dans un délai extrêmement court, de provoquer des lésions cellulaires et des réactions histologiques si variées et si importantes fera, d'ailleurs, l'objet d'un mémoire ultérieur plus développé.

DIAGNOSTIC

Lors de notre premier essai de reproduction du botulisme, réalisé par ingestion de 1 décigramme de toxine, nous pensions que, peut-être, la recherche de la toxine dans le sang permettrait un diagnostic *ante mortem*, et qu'en tout cas, sa mise en évidence *post mortem*, dans les humeurs ou dans de nombreux tissus, rendrait possible un diagnostic précis. Mais quand nous avons voulu reproduire non plus le botulisme suraigu, mais le botulisme aigu, ou subaigu, avec des doses moindres de toxine, d'ailleurs assez variables d'un animal à l'autre, il n'en fut plus de même. Le passage de la toxine dans le sang est bien constant, mais précoce et fugace; sa non-constatation ne peut donc pas avoir de valeur diagnostique. Quant à la mise en évidence de la toxine dans le cadavre, elle reste le plus souvent inconsistante.

La recherche des germes botuliques ne réussit que dans des cas favorables (ensemencement du foie moins d'une heure après la mort); encore faut-il admettre que la toxi-infection n'est pas la règle, et qu'il peut y avoir aussi des intoxications pures où la

culture restera négative. La recherche des anticorps spécifiques reste également aléatoire et ne pourra jamais être observée lors d'intoxication pure.

Nous pensons, par conséquent, que pour le moment, les vétérinaires doivent fonder leur diagnostic sur les symptômes et les lésions observés. Il faut ajouter que des variations assurant la prédominance de tel ou tel symptôme plutôt que tel autre, peuvent se produire selon les souches responsables de l'affection.

CONCLUSIONS

L'ensemble des symptômes observés au cours du botulisme équin expérimental aigu, c'est-à-dire : le signe du nez, la paralysie flasque progressive du diaphragme, la « barre » du flanc, la couleur jaune congestive des muqueuses, les lésions observées, montrant l'importance des hémorragies microscopiques dues à l'action vaso-dilatatrice de la toxine, l'ictère constant et plus ou moins prononcé, la difficulté extrême de mise en évidence de la toxine sur le malade ou dans le cadavre, qui ne peut être réussie que dans les cas suraigus, coïncident avec ce qui a été décrit en France sous le nom d' « encéphalomyélite du cheval » ou « encéphaloses » ou « encéphalohépatites », et dont l'un d'entre nous a précisé les symptômes il y a plusieurs années (5). En cas de constatation de ces maladies, les vétérinaires doivent demander l'examen bactériologique des animaux morts et instituer la prophylaxie et la thérapeutique antibotuliques sur les chevaux vivants même avant d'avoir obtenu les résultats de laboratoire, quelquefois longs à établir.

(Laboratoire départemental et régional de Biologie d'Hygiène à Caen et Service des anaérobies de l'Institut Pasteur de Paris.)

BIBLIOGRAPHIE

- (1) J. JACQUET et A.-R. PRÉVOT. — Recherches sur le botulisme équin expérimental. *Ann. Inst. Pasteur*, 1931, **81**, p. 334.
- (2) J. JACQUET et A.-R. PRÉVOT. — Le botulisme expérimental du cheval provoqué par la toxine D. Evolution et essai de sérothérapie. *Bull. Acad. Vét.*, 1952, **25**, p. 248.
- (3) L. LAMARRE et H. LAMARRE. — Contribution à l'étude clinique du botulisme du cheval. *Bull. Acad. Vét.*, 1944, **17**, pp. 117-126.
- (4) J. JACQUET et H. HABERT. — Etude d'une petite enzootie de méningo-encéphalomyélite du cheval dans la même exploitation. *Cahiers Méd. Vét.*, 1943, **13**, p. 33.
- (5) J. JACQUET. — C.R. de la Session de 1941 de la Chambre d'Agriculture de la Manche. Lemasson, éditeur, Saint-Lô.