

Le botulisme expérimental du Cheval provoqué par la toxine D. Evolution et essai de sérothérapie

par J. JACQUET et A.-R. PRÉVOT

(Laboratoire de Biologie et d'Hygiène du Calvados et Institut Pasteur, service des anaérobies)

Le botulisme du cheval, constaté cliniquement par de nombreux auteurs, constitue une affection redoutable qui présente encore de nombreuses inconnues. Des germes typiques ont été trouvés par WILLEMS [10], dans plusieurs foyers belges de « mal d'Aiseau ». En France, A.-R. PRÉVOT [3] a isolé les souches : D 468, D 571 et D 573, dans trois foyers différents. En 1950, 25 enzooties nouvelles ont été étudiées par A.-R. PRÉVOT, HUET et TARDIEUX [4]. Auparavant, PRÉVOT et ROSSI [5] avaient montré que de nombreux chevaux atteints d'une affection étiquetée, faute de mieux, « encéphalomyélite du cheval » présentaient, en fait, un taux très élevé d'agglutinines anti-*Clostridium botulinum* dans leur sang. Par la suite, ces auteurs sont partiellement revenus sur cette conception, parce que de nombreuses cultures de ces germes sont auto-agglutinables. Il n'en reste pas moins que l'étiologie et la pathogénie du botulisme du cheval sont encore mal précisées. On a tendance à considérer que l'affection équine est, comme chez l'homme, une intoxication pure : il serait impossible de retrouver les germes sur les animaux malades, encore moins de penser qu'il puisse y avoir eu production d'agglutinines. La seule méthode de diagnostic biologique serait, alors, la recherche de la toxine, en admettant que cette dernière existe encore dans certains tissus ou humeurs à dose suffisante. Plusieurs auteurs, dont nous-mêmes, en France, ont isolé des germes botuliques dans le foie de chevaux morts de l'affection. Il s'agirait alors d'une toxi-infection vraie, et l'on peut concevoir qu'au cours d'une pullulation assez lente, voire chronique, les animaux aient eu le temps d'édifier de grandes quantités d'anticorps. Il faut souligner, cependant, la très grande difficulté des recherches bactériologiques en matière de botulisme, les *Clostridies* spécifiques pouvant disparaître du foie moins d'une heure après la mort des animaux, ce qui fait ressortir, encore une fois, la nécessité de la décentralisation en matière de diagnostic et de

recherches vétérinaires. La double pathogénie possible du botulisme chez le cheval que nous venons d'exposer, a d'ailleurs été signalée récemment, par VERGE et GORET [9].

La dénomination même du type microbien responsable de l'affection chez les chevaux est incertaine. Les souches sont, en effet, déterminées par l'identification immunologique de leur toxine; il n'y a pas d'incertitude pour les types A et B, pathogènes pour l'homme. Mais, WILLEMS a rattaché au type D les souches isolées en Belgique, en utilisant un *immunserum* fourni par l'Institut Behring. Les souches de l'Institut Pasteur de Paris ont été étiquetées par comparaison avec celles de WILLEMS et portent donc la lettre D. En revanche, les vétérinaires espagnols rapportaient au type C les souches qu'ils avaient isolées, en les neutralisant par des *immunserums* Sud-Africains (STERNE et WENZEL [7]). Or, si l'on veut bien se rappeler que les premiers cas de botulisme équin ont été étudiés et identifiés comme C par les Sud-Africains, il s'ensuit dans la dénomination des types une confusion regrettable, le type D des Allemands, Belges et Français correspondant au type C des Espagnols et des Sud-Africains et inversement. Une Commission de 7 membres, émanant du Comité International de Nomenclature, étudie ce problème et doit publier prochainement ses décisions. Dans ces conditions, l'identification du type de notre toxine est sujette à révision. Il n'en reste pas moins, qu'elle correspond aux souches isolées en France à partir du cheval, et qu'elle est très fortement pathogène pour cet animal. Son pouvoir toxique pour les animaux de laboratoire a été étudié par A.-R. PRÉVOT et BRYGOO [3]. Nous allons rendre compte dans cette note des essais effectués sur le cheval pour reproduire l'affection avec la toxine D 468, essais dont les résultats doivent être différents, *a priori*, de ceux entrepris par LEGROUX, LEVADITI et LAMY, avec la toxine A ou B [2].

CONDUITE DES ESSAIS

Nos essais ont été entrepris grâce à une subvention de 120.000 francs attribuée par le Comité de la Recherche Vétérinaire, et à un prêt de 4 chevaux effectué par le Service Vétérinaire de l'Armée que nous remercions bien vivement. La toxine utilisée était préalablement précipitée par le sulfate d'ammonium et desséchée dans le vide. 1 mg correspondait à 2.000 doses minima mortelles (DMm) pour la souris de 20 g, par voie sous-cutanée. Nous avons d'abord cherché à nous placer dans les conditions les plus proches de la maladie naturelle, aussi la toxine a-t-elle été administrée par voie orale avec un peu de son

frisé. Par la suite, nous avons utilisé la voie sous-cutanée, qui, chez les autres animaux d'expérience, exige cent fois moins de toxine que la voie digestive.

DURÉE DE L'INCUBATION

I. Absorption buccale de la toxine.

1° un premier cheval, pesant 200 kg, a ingéré 1 dg de toxine. Les symptômes ont débuté brutalement par la paralysie du train postérieur, 6 heures après. Il s'agissait d'un botulisme suraigu.

2° un deuxième cheval, pesant 470 kg, a reçu 1 cg par la bouche. La maladie s'est déclarée encore brutalement, mais le 3° jour seulement (soit 70 heures après l'ingestion). Nous avons, ainsi, reproduit le botulisme clinique aigu habituel.

3° le cheval n° 3, d'un poids de 430 kg, ingère 0 cg 5 de toxine, tandis qu'un autre animal (n° 4), de même poids, en absorbe 1 mg. Ni l'un ni l'autre de ces animaux n'a présenté de symptôme botulique quelconque.

4° ces deux animaux ont absorbé, impunément, chacun 1 cg de toxine, 15 jours après. Le cheval n° 4 a reçu, en outre, trois heures après le repas infectant, 10 cm³ de sérum antibotulique D, titrant 2.000 U antitoxiques par cm³. Or, une unité antitoxique neutralise 100 DMm souris. Il s'ensuit que 10 cm³ de sérum devraient neutraliser 200.000 DMm souris, soit 10 fois la quantité correspondant à 1 cg de toxine, absorbée par le cheval. On aurait pu penser à un affaiblissement de la toxine; il n'en était rien, car un titrage effectué aussitôt, montrait qu'elle tuait encore la souris au taux de 1/2.000 de mg par voie sous-cutanée. On aurait également pu supposer que ces chevaux 3 et 4 s'étaient immunisés par l'absorption antérieure d'une faible quantité de toxine. Cette hypothèse doit être éliminée, parce que la toxine botulique ne paraît avoir aucun pouvoir immunisant par voie buccale, à faible dose, et aussi parce que la suite des expériences montrera bien la sensibilité conservée de ces animaux à la toxine.

Il semble donc que la durée de l'incubation soit d'autant plus longue, dans les conditions naturelles, que la quantité de toxine ingérée a été plus faible. Il faut, en outre, tenir un très grand compte de l'irrégularité de l'absorption du produit dilué dans la masse intestinale et peut-être aussi de son adsorption sur les particules végétales. La sensibilité au botulisme doit donc varier considérablement d'un cheval à l'autre, comme cela est bien

établi pour des substances toxiques diverses (arsenic par voie buccale notamment).

II. *Injection sous-cutanée de la toxine.*

5° un mois après les essais d'intoxication buccale infructueux, les chevaux 3 et 4 ont reçu une injection de 1 cg de toxine par voie sous-cutanée. Le sujet 3 a reçu, en outre, à la jugulaire, trois heures après, une injection de 10 cm³ de sérum antitoxique D.

Le cheval 4, qui avait reçu, 2 mois auparavant, une injection intraveineuse de 10 cm³ de sérum antitoxique (expérience n° 4) fait une incubation étalée sur 3 jours, soit de 78 heures.

Au contraire, le sujet n° 3, malgré l'injection, au cours de l'expérience du sérum, a eu une incubation plus courte, soit de 31 heures seulement.

6° un dernier cheval, enfin (n° 5), en très mauvais état d'entretien et pesant 350 kg a subi une injection sous-cutanée de 1 cg de toxine. Il avait reçu 5 minutes auparavant, 10 cm³ de sérum antitoxique correspondant. L'incubation a duré très peu de temps, soit 11 heures.

DURÉE DE LA MALADIE

Une fois les symptômes déclenchés, le botulisme évolue en un temps variable :

a) La mort après ingestion de 1 dg de toxine s'est produite en 6 heures après le début de la maladie, soit avec moins de 18 heures d'évolution totale (cheval 1).

b) Après ingestion de 1 cg, la maladie proprement dite a duré un temps encore très court, soit 10 heures; l'évolution totale a été de 80 heures (cheval 2).

S'il semble donc que le taux de toxine ingéré influe considérablement sur la durée de l'incubation, en revanche, il ne paraît pas avoir une grande influence sur la longueur de la maladie elle-même, une fois les premiers symptômes déclenchés. Nous ne savons pas ce qui se passe lors d'ingestion d'une quantité plus faible de toxine, car notre essai n° 3 n'a pas réussi. Tout au plus peut-on dire qu'il y a une grande variation de comportement des animaux à cet égard. La sensibilité individuelle intervient même pour les doses de 1 cg (voir nos essais 4).

c) L'injection sous-cutanée de 1 cg de toxine a provoqué un botulisme clinique qui a duré, sur les deux chevaux de même poids (n° 3 et 4), un temps variable, en raison de l'injection thé-

rapéutique de sérum qui a été faite sur l'un d'eux. Le cheval témoin n° 4 a été malade pendant 29 heures, soit une évolution totale de 107 heures.

Le cheval n° 3, dès les premiers symptômes, a reçu, par la voie intraveineuse, du sérum antibotulique D à la cadence ci-dessous : 100 cm³ dès la constatation des signes apparents, à 18 heures.

Le lendemain, à 9 heures : 120 cm³.
 à 12 heures : 100 cm³.
 à 15 heures : 100 cm³.
 à 20 heures : 120 cm³.

Le surlendemain, à 11 heures : 100 cm³.

Malgré cette sérothérapie, qui eût dû compenser considérablement la dose de toxine injectée, s'il n'y avait pas de phénomènes de fixation tissulaire et des complications lésionnelles, l'animal a succombé au botulisme, après 49 heures de maladie, soit une durée totale d'évolution de 80 heures.

d) Quant au dernier cheval utilisé, il a fait une évolution suraiguë, malgré l'injection d'une dose de toxine de 1 cg seulement. La mort est survenue en 3 heures. La durée d'évolution totale a donc été extrêmement faible, soit 13 heures en tout.

Quand on introduit la toxine par voie sous-cutanée, il semble donc que l'injection antérieure de sérum antitoxique, même remontant à plus de deux mois, prolonge la durée de l'incubation.

Au contraire, malgré l'inefficacité thérapeutique constatée au cours de nos premiers essais, le sérum a manifestement soutenu l'animal malade. Il est probable que les doses que nous avons employées sont pratiquement beaucoup trop faibles. On devra donc ne pas hésiter, pour le traitement des animaux atteints de botulisme, à utiliser des doses très importantes de sérum. Rossi [6] recommande d'injecter la première fois au moins 200 cm³ par la voie intraveineuse. Seules, de nouvelles expériences nous permettront de préciser le mode d'utilisation de la sérothérapie. En tout cas, il semble déjà bien établi que la dose réelle de sérum à injecter doit être déterminée par des essais cliniques tenant compte des phénomènes d'adsorption tissulaire de la toxine et de formation de lésions importantes sur lesquelles nous aurons à revenir; la sérothérapie ne devra pas seulement être calculée sur des réactions de laboratoire du type antigène-anticorps, dont l'importance reste cependant indiscutable en ce qui concerne la préparation même du sérum. Il faut tenir compte, également, du fait que le botulisme expérimental n'est pas complètement

comparable à l'affection naturelle constatée par les praticiens; l'état général du sujet intervient évidemment, comme nous l'avons montré par notre expérience n° 6 (cheval 5). D'autres raisons interviennent, en outre, notamment le fait que la toxine n'est pas forcément ingérée en aussi grande quantité, ou que la dose est partagée entre plusieurs repas, toutes raisons qui contribuent à rendre nettement moins sévère l'affection habituelle. C'est ce qui explique le succès constaté par de nombreux vétérinaires dans l'emploi en clientèle du sérum antitubulique D pour guérir les cas qu'ils ont observés.

BIBLIOGRAPHIE

- [1]. J. JACQUET et A.-R. PRÉVOT. — *Ann. Inst. Past.* 1931, **81**, 334.
- [2]. R. LEGROUX, J. LEVADITI et R. LAMY. — *Ann. Inst. Past.*, 1946, **72**, 1.543.
- [3]. A.-R. PRÉVOT et BRYGOO. — *Ann. Inst. Past.*, 1950, **79**, 1.
- [4]. A.-R. PRÉVOT, M. HUET et P. TARDIEUX. — *Bull. Acad. Vét.*, 1930, **23**, 481.
- [5]. A.-R. PRÉVOT et P. ROSSI. — *Bull. Acad. Vét.*, 1946, **19**, 312.
- [6]. P. ROSSI. — *Bull. Soc. Vét. Prat.*, 1950, **34**, 288.
- [7]. M. STERNE et L. WENZEL. — *Congrès Intern. Vét. Londres*, 1949.
- [8]. J. VERGE. — *Rec. Méd. Vét.*, 1931, **127**, 767.
- [9]. J. VERGE et P. GORET — *Bull. Soc. Sciences Vét. Lyon*, 1948.
- [10]. R. WILLEMS. — *Acta Biol., Belg.*, 1941, **1**, 333.

Discussion

M. LEMÉTAYER. — Le travail de M. JACQUET et de notre collègue M. PRÉVOT est évidemment très intéressant. Ils ont pu bénéficier de quelques chevaux mis à leur disposition, ils n'en ont pas eu suffisamment cependant ; les différences individuelles sont tellement grandes qu'il est très difficile de conclure du résultat d'expérience portant sur un nombre si réduit d'animaux. D'autre part, comme le soulignent les auteurs, il est plus que probable que, dans la nature, l'intoxication n'est pas aussi massive que celle qu'ils ont réalisée.

Il faut espérer que dans d'autres expériences de ce genre, ils pourront nous donner des renseignements précieux sur la symptomatologie du botulisme expérimental chez le cheval, qu'ils ont réalisé.

Nous sommes jusqu'ici assez mal fixés sur la sémiologie du botulisme chez le cheval dont le diagnostic différentiel avec diverses affections méningo-encéphaliques reste souvent difficile.

Nos confrères praticiens sont presque tous d'accord sur certains symptômes. Nous avons reçu ce matin un coup de téléphone de notre confrère, le Docteur vétérinaire EVRARD, de Montdidier, qui vient d'observer sur des bovidés une maladie qui lui a fait penser, avec juste raison, au botulisme. Il nous a décrit les symptômes et je crois utile de les donner ici afin qu'ils soient divulgués et que nos confrères, qui ont l'occasion de voir ce qu'ils croient être du botulisme, puissent nous faire savoir s'ils ont enregistré les mêmes symptômes.

Cette maladie, que vient de nous signaler M. le Docteur vétérinaire EVRARD, et qui a déjà causé la mort rapide de plusieurs sujets, peut être attribuée, d'après lui, à l'ingestion de drèches avariées.

Les symptômes enregistrés sont : la salivation, la difficulté de déglutition, pas d'hyperthermie mais plutôt de l'hypothermie. On enregistre ensuite l'impossibilité complète de la déglutition; puis apparaissent des paralysies qui se généralisent rapidement, l'animal tombe en décubitus et la mort survient peu après, en quarante-huit heures en moyenne. Notre collègue, M. NICOL, s'est rendu immédiatement sur place et pourra sans doute nous apporter des renseignements complémentaires intéressants. Des prélèvements de foie ont été effectués sur un animal abattu *in extremis* et confiés à l'examen bactériologique de notre collègue M. le Docteur PRÉVOR, de l'Institut Pasteur, à Paris.

Au sujet de la symptomatologie, je crois devoir rappeler que tous les vétérinaires qui nous ont écrit à ce sujet signalent que le premier symptôme observé par le propriétaire chez lequel sévit le botulisme est la mollesse au travail. Chez ces sujets, tout rentre dans l'ordre si la sérothérapie spécifique est rapidement instituée.