

Recherches sur trois souches de *Clostridium botulinum* D.

par A. R. PRÉVOT et P. ROSSI

Dans un travail antérieur (1), nous avons exposé que le sérum de cheval normal présente un taux appréciable d'agglutinines pour les types A, B et C de *Cl. botulinum*, taux qui augmente nettement au cours de la méningo-encéphalite des équidés. Au moment où ce travail fut exécuté, nous ne possédions pas de souche de *Cl. botulinum* D et par conséquent, nous ne pouvions pas rechercher le comportement de ce type antigénique dans la méningo-encéphalite des équidés. Les travaux de WILLEMS (2), ceux de BOTIJA, de HERNANZ et MIGUEL (3), sur le botulisme équin, où ces derniers auteurs prétendent avoir trouvé constamment le type C ; l'opinion de LESBOUYRIES (4), les publications de TAMBAREAU (5), de PINGUET (6) suivant lesquelles la méningo-encéphalite est traitée avec succès par le sérum antigangréneux nous ont incité à reprendre la question.

N'ayant pas réussi à isoler, dans les nombreux prélèvements opérés sur des chevaux atteints de méningo-encéphalite (sang, sérosité, contenu stomacal et intestinal) d'anaérobies pathogènes du groupe de *Cl. botulinum*, nous avons pu cependant poursuivre ces recherches grâce à l'obligeance du Professeur WILLEMS, de Bruxelles, qui nous a aimablement envoyé une souche de *Cl. botulinum* D, isolée du foie d'un cheval mort de pseudo-encéphalomyélite ; et du laboratoire de recherches de l'Afrique du Sud, qui nous a envoyé deux souches du même type, les souches AA 1 et AA 2. Nous les remercions très vivement de leurs envois.

(1) A.-R. PRÉVOT et P. ROSSI. — *Bull. Acad. Vét.*, 1947, T. 19, février 1942, p. 312.

(2) R. WILLEMS. — *Acta Biol. belg.*, T. 3, p. 353 et 396, 1941, et *Ann. de Méd. Vét.*, février 1942.

(3) BOTIJA, HERNANZ, MIGUEL. — *Trav. Inst. Biol. Anim.*, 1942, p. 223, 288, 326, 346, 511.

(4) LESBOUYRIES. — *Bull. Acad. Vét.*, 1947, T. 19, p. 313.

(5) TAMBAREAU. — Cité par LESBOUYRIES.

(6) PINGUET. — *Rec. Méd. Vét. Ecole d'Alfort*, 1947, 123, 61.

I. *Recherche du pouvoir agglutinant des sérums équins sur Cl. botulinum D.* — Nous avons éprouvé 14 sérums normaux et constaté que le type D se comporte comme les types A, B et C, c'est-à-dire, est agglutiné par les sérums de chevaux normaux à des taux allant du 1/50° au 1/250°. Ce taux augmente légèrement quand on utilise des sérums de chevaux atteints, convalescents ou guéris d'encéphalomyélite équine.

II. *Recherches du pouvoir agglutinant des sérums de bovidés normaux sur les types A, B, C et D.* — Nous avons éprouvé 10 sérums de bœufs, vaches, génisses et constaté que les 4 types sont agglutinés à des taux allant du 1/100° au 1/1.000°, le type C plus fortement agglutiné que les autres, le type D à des taux comparables à ceux des types A et B. Ces résultats confirment ceux de SCHOENHOLZ et MAYER (1925).

III. *Recherches sur les caractères biochimiques des types A, B, C et D.* — Nous avons étudié les produits de métabolisme du bouillon V. F. glucosé à 1/100 des quatre types de *Cl. botulinum*. Ces recherches sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Types	Souches	NH ₃	Amines volatils	Aldéhydes	Cétone	Alcool	Indol	Acétyl Méthyl Carbin.	SH ₂	Type fermentaire
A	Collec. person.	0,034	+	traces	+	+	0	+	+	formo-acéto-butyro-lactique
A	Legroux	0,089	+	0	0	0	0	0	+	acéto-butyro-lac.
B	Collec. person.	0,068	+	traces	+	+	0	0	+	acéto-butyro-lact.
B	Legroux	0,074	+	traces	0	+	0	0	+	acéto-butyro-lact.
C	Collec. person.	0,617	+	+	+	0	0	0	+	acéto-propiono-butyro-lactique.
D	Willems	0,017	+	+	0	+	0	+	+	acéto-butyro-lact.
D	Afr. Sud	0,010	+	0	0	+	0	0	+	acéto-butyro-lact

On voit par là que les 4 types sont essentiellement des ferments acéto-butyro-lactiques, pouvant donner accessoirement de l'acide formique (types A et B, une souche de chaque) et de l'acide propionique (type C). Les autres produits de métabolisme sont SH₂, NH₃ et des amines volatiles, produits par toutes les souches, et

irrégulièrement : aldéhydes, cétones, alcools et acétylméthylcarbinol. Aucune souche ne donne de l'indol.

Ainsi, les souches WILLEMS et Afrique de *Cl. botulinum* D sont dans l'ensemble du même type biochimique que les souches de types A, B et C.

IV. *Etude du pouvoir pathogène de Cl. botulinum* D. — L'injection de 0,1 cm³ de culture de 48 heures en bouillon V. F. glucosé, dans le muscle du cobaye, tue celui-ci en 2 jours. A l'autopsie, on remarque un certain degré de congestion œdémateuse du membre infecté, une grosse adénopathie de l'aîne correspondante, mais pas de sérosité et pas de myolyse. La reprise du germe est négative. L'injection de 0,1 cm³ de toxine centrifugée tue le cobaye en 5 heures. L'abdomen est ballonné, mais ne contient pas de sérosité. Léger œdème sous-cutané local.

L'injection des microbes correspondants, lavés 5 fois tue le cobaye en 7 heures, en reproduisant le même tableau nécropsique : abdomen ballonné, estomac et intestin fortement météorisés, adénopathie inguinale monolatérale. La reprise du germe est négative.

La souris est tuée en 15 heures par l'injection de 0,001 cm³ de toxine filtrée ; elle présente un œdème gélatineux local.

La toxine de 8 jours filtrée produit le même résultat sur cobaye et souris avec météorisme abdominal par paralysie intestinale.

On peut conclure de ces faits que la souche Willems de *Cl. botulinum* D secrète une toxine active paralysant les viscères avant de tuer l'animal, mais fait absolument inattendu et contraire aux données classiques, les corps microbiens lavés 5 fois et pratiquement dépourvus de toxine libre, sont aussi toxiques que les cultures ou que la toxine elle-même. Cette toxine filtrée n'est neutralisée par aucune dose de sérum antitobotulique A et B, ni par le sérum anti *Cl. septicum*, ni par le sérum anti-œdemaliens.

Discussion. — Les souches étiquetées *Clostridium* D provoquent bien, d'après les travaux des auteurs Sud-Africains et de WILLEMS un syndrome neuro-paralytique du cheval très semblable à ce qu'il est convenu de nommer botulisme équin. Les souches se comportent par leurs caractères biochimiques, sérologiques et pathogéniques, comme un *Cl. botulinum* vrai ; toutefois,

1° la toxine n'est pas neutralisée par les sérums anti A et anti B, ni par le sérum antigangréneux.

2° Les corps microbiens lavés sont toxiques par eux-mêmes, en dehors de toute multiplication *in situ*.

En Espagne, le botulisme équin, bien étudié par BOTIJA, HERNANZ ; HERNANZ et MIGUEL est produit par le type C. En France, dans les pseudo-encéphalomyélites des équidés, ou encore méningoencéphalites des équidés, on n'a pas trouvé de *Cl. botulinum*, mais les sérums des chevaux atteints agglutinent plus fortement les types A, B, C et D que les sérums normaux. Le syndrome est souvent amélioré ou guéri par le sérum antigangréneux polyvalent de l'Institut Pasteur, et LESBOUYRIES a isolé dans la moelle osseuse, tantôt *W. perfringens*, tantôt *Cl. septicum*.

Il semble donc que le syndrome étiqueté méningoencéphalite des équidés ou encore pseudo-encéphalomyélite des équidés groupe diverses maladies : botulisme équin du type D en Belgique, botulisme équin du type C en Espagne, et syndrome d'étiologie inconnue en France.

Conclusions. — Les souches étiquetées *Clostridium botulinum* D par WILLEMS et par les auteurs de l'Afrique du Sud, se comportent dans l'ensemble comme d'authentiques germes botuliques, sauf que les corps microbiens lavés sont toxiques par eux-mêmes, et que les cultures provoquent un gros œdème local.

Ce type n'a pas été isolé dans l'encéphalomyélite équine en France.

(Institut Pasteur).
