



Les maladies des animaux dues à des *Clostridium Welchii*

par

A. RAFYI et M. ARDAHALI (*)

Le genre *Clostridium*, constitué de bactéries anaérobies formant des spores, peut provoquer des maladies diverses, souvent graves et mortelles chez nos animaux domestiques.

L'importance de certaines de ces maladies dans nos régions est incontestable, en raison de la valeur économique croissante des animaux de boucherie et de laiterie.

En Iran, et très probablement dans d'autres pays du Proche-Orient, autrefois l'attention était attirée sur les maladies contagieuses d'allure plus grave, comme la peste bovine, le charbon, etc . . . qui exigeaient une intervention beaucoup plus rapide, de sorte que la lutte contre les maladies, telle que les entérotoxémies, était plutôt négligée.

Actuellement, la situation épizootologique est changée, certaines de ces maladies ont subi une éradication ou un contrôle méthodique; il est donc temps que les autorités vétérinaires responsables s'occupent d'autres problèmes, comme les maladies causées par des clostridies, qui menacent la santé de notre cheptel ovin et bovin.

L'éradication de ces organismes infectieux, en raison de leur habitat normal dans le sol et dans le contenu intestinal des animaux apparemment sains, est impossible. On a donc recours à la vaccination qui, dans certains cas, donne des résultats encourageants. Il est donc nécessaire de les connaître le mieux possible et de vacciner méthodiquement et continuellement les animaux réceptifs, pour limiter les pertes engendrées par ces toxi-infections.

Nous avons donc pensé qu'il était utile de rappeler l'aspect général

(*) *Bull. off. Intern. des Epizoot.* 1961, LL No. 5-6

de ces anaérobies, mentionnant aussi les travaux effectués à ce sujet à l'Institut Razi.

Définition.

Les toxi-infections, connues chez les animaux sous différents noms : entérotoxémie, surcharge alimentaire ("overeating"), rein pulpeux ("pulpy kidney"), etc . . . , apparaissent généralement chez les ruminants à la suite de l'absorption des toxines bactériennes à travers la paroi intestinale. La plupart de ces toxi-infections sont dues au *Clostridium welchii* (*Cl. perfringens*), types B, C ou D.

Le type C se rencontre fréquemment dans l'intestin des animaux bien portants, notamment le mouton.

Historique.

Cl. welchii type A (*Cl. perfringens*) a été décrit par Welch et Nuttall en 1892, sous le nom de *Bacillus aerogenes capsulatus*.

D'autres auteurs, notamment Veillon et Zuber en 1898, ont étudié et appelé cet organisme *Bacillus perfringens*, plus tard appelé *Cl. welchii* type A par Wilsdon en 1931.

Ce germe, très répandu dans la nature, était un facteur important dans l'évolution de la gangrène gazeuse pendant la première guerre mondiale.

Nous ne pouvons pas discuter ici la classification et la nomenclature de ce germe; nous adoptons la dénomination généralement acceptée par les auteurs anglo-saxons, c'est-à-dire *Cl. welchii* type A (*Cl. perfringens*).

En 1923, Gaiger et Dalling ont isolé le *Cl. welchii* dans la dysenterie des agneaux. Dalling, Allen et Mason (1925) et Dalling (1928) ont montré que le bacille de la dysenterie des agneaux produit une toxine mortelle, différente au point de vue immunologique de la toxine produite par les souches de la gangrène gazeuse.

En 1930, une autre souche de *Cl. wetchii* a été isolée chez les moutons adultes par Mc Ewen, appelée *Bacillus paludis*, et cet auteur, avec Roberts (1933), a montré que cet organisme peut provoquer une entérotoxémie chez les moutons.

En Australie, Bennetts (1932) ayant isolé un germe anaérobie de l'entérotoxémie des moutons et Gill (1932) en étudiant la maladie du rein pulpeux des agneaux ont décrit une autre souche de *Cl. welchii* comme agent causal de cette maladie, qu'on a appelé *B. ovitoxicus*.

D'après les travaux de Wilsdon (1933), nous savons qu'il existe dans le groupe de *Cl. welchii* quatre type d'organismes différents du point de vue sérologique.

Les antitoxines préparées avec ces différents types peuvent neutraliser leur toxine spécifique, mais il y a une variation considérable dans leur pouvoir neutralisant à l'égard des toxines d'autres membres du groupe. D'après la production des toxines, il les a appelé :

- *Cl. welchii* type A : Bacille de la gangrène gazeuse.
- *Cl. welchii* type B : Bacille de la dysenterie des agneaux.
- *Cl. welchii* type C : *Bacillus paludis*.
- *Cl. welchii* type D : *Bacillus ovitoxicus*.

Cette classification est basée sur la présence des trois sortes de toxines mortelles qui se trouvent dans le filtrat de la culture, appelées par lui-même W, Z et X.

Ainsi, le type A secrète la toxine W, le type B produit W, Z et X, le type C produit W et Z et le type D produit W et X.

Plus tard, en 1933, Glenny, Barr, Llewellyn-Jones, Dalling et Ross ont montré que la fraction Z de Wilsdon est composée au moins de trois fractions toxiques et ils ont proposé la terminologie suivante :

- Type A : Alpha (W de Wilsdon).
- Type B : Alpha (bêta, gamma, delta) (Z de Wilsdon), epsilon (X de Wilsdon).
- Type C : Alpha (bêta, gamma, delta).
- Type D : Alpha, epsilon.

Bosworth (1943) a décrit une autre souche de *Cl. welchii*, isolée chez un veau; cette souche produit une autre fraction de toxine, qui n'a pas été décrite auparavant; on l'a nommée iota toxine, la souche a été appelée type E. En 1949, Zeissler et Ransfeld-Sternberg ont décrit une souche thermo-résistante de *Cl. welchii*, isolée à la suite d'une intoxication alimentaire chez l'homme en Allemagne. Cette souche ne produit que des alpha et bêta toxines; on l'a appelée type F. Du point de vue pratique, les quatre premiers types ont seulement une importance économique. Oakley et Warrack (1953), en vue de la détermination des types de *Cl. welchii*, dressent un tableau dans lequel les propriétés et la distribution des antigènes solubles sont données.

Brooks, Sterne et Warrack (1957) ont examiné plus de 300 souches provenant des différents pays; ils ont confirmé la production classique des antigènes décrits par les différents auteurs, mais ils ont trouvé que dans les groupes homogènes et bien définis des souches on peut trouver une différence dans les types A, B et C.

	TYPES						REMARQUES
	A	B	C	D	E	F	
Alpha . . .	++	+	+	+	+	+	Léthale, hémolytique, nécrosant, Lecithinase.
Beta	—	++	++	—	—	+	Léthale, nécrosante.
Gamma . . .	—	+	+	—	—	+	Léthale.
Delta	—	+	+	—	—	—	Léthale, hémolytique.
Epsilon . . .	—	+	—	+	—	—	Léthale, formée comme protoxine.
Eta	(V)	—	—	—	—	—	Léthale, rare.
Theta	V	+	+	+	+	—	Léthale, hémolytique, oxygène labile.
Iota	—	—	—	—	++	—	Léthale, formée comme protoxine.
Kappa	+	—	—	V	+	—	Léthale, collagenase.
Lambda . . .	—	++	—	V	+	—	Non léthale, proteinase.
Mu	V	+	+	V	—	—	Non léthale hyaluronidase.
Nu	+	+	+	+	+	—	Non léthale desoxyribonuclease.

V = Variable (V) = Variable, rare.

Identification des types.

L'identification des types est basée sur la présence des toxines alpha, bêta, epsilon, rarement iota, dans un milieu de culture liquide. Les toxines alpha et bêta sont présentes dès le début de la culture; la toxine epsilon, dans les types B et D, est présente sous forme d'une protoxine atoxique, mais au fur et à mesure que la culture vieillit, elle se transforme sous une action enzymatique en une toxine mortelle (Bosworth et Glover, 1934; Tuner et Rodwell, 1943).

La trypsine peut accélérer cette conversion.

Pour déceler les toxines, on a recours à l'inoculation intraveineuse du matériel à des souris (action léthale) ou on les injecte dans le derme des

cobayes (action dermo-nécrotique); de même, la présence de la toxine alpha peut être démontrée par son activité hémolytique ou lécithinasique.

Pour reconnaître les toxines alpha, bêta et epsilon dans le contenu intestinal ou dans le filtrat d'une culture liquide, on peut utiliser l'épreuve de la neutralisation par le sérum en utilisant les sérums spécifiques A, B et D préparés sur les chevaux. Au cours des dernières années, des standards internationaux ont été préparés. Ces standards sont préparés et livrés aux intéressés pour le type A par l'Institut d'Etat des Sérums à Copenhague et pour les types B et D par ce même Institut, ainsi que par le Laboratoire Central Vétérinaire du Ministère de l'Agriculture et des Pêches à Weybridge, en Angleterre.

Le filtrat contenant des toxines est centrifugé et clarifié à travers le papier filtre; si on veut l'utiliser pour l'injection intraveineuse, on doit le stériliser par filtration. Le filtrat est injecté à deux souris, de 18-20 g de poids, à raison de 0,3 ml; si les souris succombent, on aura recours au mélange toxine-antitoxine.

Généralement, un mélange de 0,9 ml de la toxine et 0,3 ml de l'antitoxine est effectué. Le mélange est gardé à la température du laboratoire pendant une demi-heure et, ensuite, 0,4 ml de ce mélange est injecté à chacune des deux souris. On recommande que deux autres souris soient injectées avec le sérum normal comme témoins.

L'épreuve concernant l'hémolysine et la lécithinase est effectuée dans des tubes, en utilisant 5 p. 100 de globules rouges lavés du mouton et de lecitho-vitelline comme indicateurs (Mac Farlane, Oakley et Anderson, 1941). Le mélange du filtrat toxique et indicateur est incubé dans un bain-marie à 37° C pendant une heure; on l'examine ensuite pour la réaction de l'hémolyse et de la lécithinase. Les laisser pendant la nuit à la température du laboratoire, faire encore une lecture le lendemain matin.

Pour l'épreuve de la neutralisation par le sérum, on fait un mélange de 1 ml du filtrat et de 0,5 ml du sérum antitoxine dilué jusqu'à ce qu'il contienne 10 unités du principe anti-hémolysine ou anti-lecthinase pour 1 ml. Après avoir fait le mélange à la température du laboratoire, on ajoute 0,5 ml des indicateurs correspondants, le mélange final est incubé et la lecture aura lieu comme précédemment.

Les souris sont observées pendant 4 jours.

La mort survient chez les souris avec la toxine alpha après quelques heures, accompagnée d'hémoglobinurie. La toxine bêta tue la souris en quelques minutes, avec un spasme nerveux.

La mort due à la toxine epsilon peut survenir aussitôt après l'injection ou peut être retardée de quelques heures; elle est accompagnée aussi de

spasmes nerveux.

L'action de la toxine iota est analogue à celle de la toxine bêta.

L'épreuve de l'inoculation intradermique chez le cobaye et le lapin est plus sensible que l'épreuve de l'injection intraveineuse chez la souris.

La toxine alpha produit une lésion nécrotique d'une dimension irrégulière, jaunâtre: la toxine bêta provoque une zone congestive rougeâtre, qui se nécrose parfois. La toxine epsilon provoque au début un œdème, avec une légère nécrose et des points hémorragiques (1).

Morphologie.

Nous prenons comme type *Cl. welchii*, type A. La forme végétative est un bâtonnet encapsulé, avec des extrémités légèrement tronquées. Sa dimension est très variable; on le trouve seul ou par deux, parfois on observe des formations en chaînette.

Il n'est pas mobile et ne sporule pas dans un milieu acide. On peut provoquer la formation des spores dans les milieux alcalins; dans ce cas, la spore est large, ovale et subterminale. La résistance des spores à la chaleur n'est pas grande, quelques minutes d'exposition à une température de 100° C les détruisent.

La formation des capsules est généralement admise comme un caractère morphologique, mais il est difficile de le démontrer, même dans les cultures fraîches.

On peut voir les capsules dans les éléments qui se trouvent dans les liquides de l'organisme ou dans les milieux contenant le sérum et du lait.

Le microbe se colore facilement avec les colorants ordinaires; il est gram positif dans les cultures jeunes.

Caractère cultural.

Le germe pousse bien dans les milieux ordinaires.

La colonie sur la gélose et sur la gélatine est ronde, grisâtre, légèrement translucide, souvent avec des bords nets.

Sur la gélose au sang, on peut voir deux types de colonies, l'une hémolytique et l'autre non hémolytique. Sur la gélose au sang de lapin, la colonie du type A est entourée par une zone étroite d'hémolyse complète, due à la toxine bêta, et une zone plus large d'une hémolyse incomplète, due à la toxine alpha. Les types B et C, sur la gélose au sang de mouton, peuv-

1. Pour plus de détail on peut consulter les ouvrages spéciaux notamment le livre de "Infectious Diseases of animals due to Bacteria, vol. I, by Stableforth et Galloway: chapitre: Clostridial diseases by R. S. Roberts.

ent montrer des zones plus larges d'hémolyse complète, due à l'action de toxine delta.

Le besoin en amino-acides de *Cl. welchii* dans les milieux de cultures a été étudié par Boyd, Logan et Tytell (1948).

Les maladies causées par Cl. welchii chez les animaux.

Les types de *Cl. welchii* responsables des maladies sont :

- Type A : Provoque la gangrène gazeuse chez l'homme.
- Type B : Agent causal de la dysenterie des agneaux.
- Type C : "Struck".
- Type D : Entérotoxémie proprement dite.

DYSENTERIE DES AGNEAUX.

La dysenterie des agneaux est une maladie grave des agneaux nouveau-nés de 1-7 jours; elle est due à l'absorption de la toxine de *Cl. welchii*, type B, à travers l'intestin grêle.

La dysenterie des agneaux, connue en Angleterre et en Ecosse depuis longtemps (Gaiger, 1920; Dalling, Allen et Mason, 1925; Dalling, 1928), a été signalée aussi dans d'autres parties du monde.

La maladie est rencontrée aussi chez les veaux et les poulains, mais généralement ce sont les agneaux âgés de moins de 14 jours qui paient un large tribut à cette maladie dans certaines régions.

Etiologie.

La maladie est une toxémie résultant de la pullulation du *Cl. welchii* type B, dans la lumière et probablement dans les parois de l'intestin.

Griner et Johnson (1954) rapportent des cas de dysenterie des agneaux en Amérique due au *Cl. welchii* type C.

Le germe peut être isolé de la terre des fermes infectées; il est donc très probable que les agneaux se contaminent en léchant la terre ainsi souillée.

La maladie se voit de préférence chez les agneaux de 1-14 jours, rarement de 21 jours. En Iran, nous avons isolé ce germe dans des cas d'entérotaxémie des moutons et des chèvres adultes.

La maladie est parfois en relation avec l'ingestion d'une grande quantité de lait.

Cl. welchii type B est généralement plus gros que le type A, il digère le sérum coagulé et le fait fermenter.

Au début de son isolement, il est moins hémolytique que les autres types de *Cl. welchii*; sur gélose au sang, on voit seulement une zone étroite d'hémolyse du type bêta.

Epizootologie.

La maladie, quoique signalée dans d'autres pays du monde, est néanmoins beaucoup plus fréquente dans quelques régions de l'Angleterre.

L'incidence de la maladie diffère d'une année à l'autre et la mortalité peut atteindre jusqu'à 50 p. 100.

Symptômes.

La maladie apparaît plus particulièrement chez les agneaux de 1-7 jours, de préférence chez ceux qui se nourrissent abondamment avec le lait de leur mère. Elle apparaît parfois sous forme aiguë; l'agneau est mort au bout de quelques heures sans présenter de diarrhée.

Dans d'autres cas, l'animal cesse de s'allaiter et se tient d'une façon spéciale, indiquant une douleur intense. Les excréments peuvent être diarrhéiques, mélangés de sang. La mort survient au bout de 2-3 jours.

Anatomie pathologique.

A l'autopsie, on trouve des ulcères hémorragiques sur la muqueuse intestinale, allant jusqu'à un diamètre de 2 cm. Parfois, dans les cas suraigus, les lésions ulcéreuses font défaut.

Les lésions s'observent notamment sur l'intestin grêle; la perforation intestinale est rare, on peut l'observer quand même avec une péritonite localisée. L'entérite hémorragique et l'ulcère intestinal sont apparemment dus à l'action de la toxine bêta.

Diagnostic.

A part les lésions caractéristiques, on peut envoyer l'intestin grêle à un laboratoire en vue de contrôler la teneur de la toxine spécifique dans le contenu intestinal et pour effectuer des cultures nécessaires.

Le prélèvement s'effectue de préférence au voisinage d'un ulcère et la culture est effectuée sur bouillon glucosé et sur gélose au sang, pour l'incubation en anaérobiose.

Un diagnostic rapide peut se faire s'il y a une toxine dans la lumière intestinale. Le contenu intestinal, centrifugé et filtré à travers le papier filtre, servira pour les épreuves ultérieures décrites précédemment.

Prophylaxie.

Dalling, en 1928, a montré l'action curative très importante du sérum hyperimmun. De même, il a montré qu'avec un vaccin formolé on peut donner l'immunité nécessaire aux brebis avant l'agnelage, le passage des

anticorps de la brebis au jeune agneau s'effectue par le colostrum.

En raison d'une différence de réaction des brebis à la vaccination, on conseille de préférence l'injection de l'antitoxine aux nouveau-nés.

Entérotoxémie du mouton causée par «Cl. Welchii» Type C.

Une entérotoxémie grave et mortelle du mouton, causée par absorption de la toxine du *Cl. welchii* type C, à travers l'intestin grêle, se rencontre dans certaines parties de la Grande-Bretagne.

La maladie est appelée communément par un terme local sous le nom de "Struck".

C'est en 1929 que Mc Ewen a isolé le *Cl. welchii*, type C, à côté d'autres organismes anaérobies.. Il l'a appelé *Cl. paludis*.

Mc Ewen et Roberts (1931) montrèrent la production et la diffusion de la toxine à travers la lumière intestinale.

La maladie s'observe chez le mouton âgé, de préférence en hiver et au printemps, à l'époque où le fourrage n'est pas abondant.

Etiologie.

On a montré que la maladie "Struck" est toujours associée à la présence de *Cl. welchii*, type C, dans l'organisme, que la toxine est présente dans le contenu de la caillette et de l'intestin grêle, qu'on peut reproduire la maladie en faisant ingérer une grande quantité de bouillon de culture de *Cl. welchii* type C aux moutons sains.

La perméabilité des parois intestinales à la toxine, malgré l'absence apparente de lésions nécrotiques est évidente; le mécanisme qui engendre ce phénomène est inconnu.

Cl. welchii, type C, a les caractères généraux au point de vue culture et biochimie des autres *Cl. welchii*. Sa toxine est neutralisée par sa propre antitoxine et aussi par l'antitoxine du *Cl. welchii*, type B. La toxine consiste en alpha, delta et bêta toxines, mais l'activité biologique est due notamment à la toxine bêta.

Le filtrat provenant de la culture est plus toxique par la voie intra-veineuse chez la souris que le filtrat du type B et peut provoquer la mort avec une dose de 0,0001 ml.

Epizootologie.

La maladie est plus particulièrement observée dans son foyer initial, en Angleterre. Des cas sporadiques ont été signalés en France, par Weinberg, Guillaunie et Staub (1935), en Turquie par Weinberg et coll. (1935), en

Grèce par Kaplan (1946), en Amérique par Griner et Johnson (1954), chez les agneaux; en Nouvelle-Zélande par Buddle (1954), en Serbie par Katitch et Dimitrijevitich (1954).

On a observé des cas d'entérotoxémie due au *Cl. welchii* type C chez les veaux aux Etats-Unis d'Amérique (Griner et Bracken, 1953) et chez les porcelets en Angleterre (Field et Gibson, 1955).

Symptomatologie.

La maladie s'observe généralement chez les moutons adultes. La mort survient très rapidement; souvent, on peut noter au début une sorte d'inquiétude et de la rigidité chez l'animal.

Anatomie pathologique.

On trouve une entérite avec ou sans ulcère dans l'intestin grêle, la paroi du gros intestin est contractée; dans la cavité péritonéale, on voit une transsudation abondante, avec des points hémorragiques.

La nécrose de la couche superficielle de la muqueuse intestinale peut gagner la couche profonde et on peut même trouver des organismes ressemblant au *Cl. welchii* dans la profondeur et à la périphérie de l'ulcère.

La toxine est présente dans la caillette et dans le contenu intestinal.

Les lésions observées en Amérique (Griner et Johnson, 1954) sur des agneaux diffèrent des lésions précitées; elles ressemblent beaucoup à des lésions observées sur les agneaux atteints de la dysenterie, c'est-à-dire ulcère hémorragique de l'intestin grêle et du gros intestin avec présence de sang dans la lumière intestinale, etc. . .

Prophylaxie.

Au début, on avait recours à des anatoxines brutes en vue de l'immunisation des moutons; on peut avoir recours à des antigènes beaucoup améliorés, en vaccinant les animaux quelques mois avant la saison où la maladie apparaît. Le vaccin préparé avec le type C du *Cl. welchii* a été et peut être utilisé. On peut aussi utiliser le vaccin préparé avec *Cl. welchii* type B.

ENTEROTOXEMIE DES VEAUX.

L'entérotoxémie des veaux, appelée aussi entérotoxémie hémorragique, entérite hémorragique, est une maladie grave des jeunes veaux observée aux Etats-Unis d'Amérique (Griner et Bracken, 1955).

Etiologie.

Elle est causée par la toxine bêta du *Cl. welchii* type C. On croit que l'origine de la toxine est en relation avec une indigestion primaire ou avec un milieu intestinal favorable pour la production d'une grande quantité de toxine.

Griner et Bracken sont arrivés à reproduire la maladie en faisant avaler à des veaux un tube de culture en bouillon de ce germe.

Distribution de la maladie.

La maladie a été signalée en Amérique par Bosworth (1943) et Hepple (1952), Griner et Bracken (1953).

Symptomatologie.

Les symptômes sont variables d'après le degré de l'intoxication. Souvent, on trouve les veaux morts, sans qu'on arrive à les voir malades avant. Au début de la toxémie, on peut noter une faiblesse, des coliques. La diarrhée hémorragique peut être observée. La convulsion et des spasmes toxiques apparaissent et l'animal succombe.

Anatomie pathologique.

A l'autopsie, on trouve une entérite hémorragique au niveau du jéjunum et de l'iléon, avec nécrose et desquamation des muqueuses.

Une grande partie de l'intestin peut montrer des hémorragies. Le contenu intestinal est rouge et contient du sang.

La muqueuse intestinale est nécrosée et hémorragique. Les ganglions lymphatiques abdominaux sont tuméfiés et hémorragiques. La caillette est distendue, contient une grande quantité de lait. On trouve également des pétéchies sur l'épicarde.

Prophylaxie.

On ne peut pas immuniser les jeunes veaux activement, on a donc recours à l'injection du sérum antitoxique. Dans les régions infectées, on a recours aussi à l'immunisation des vaches pleines 2 à 4 mois avant la mise bas.

ENTEROTOXEMIE DES MOUTONS

DUE AU "CL. WELCHII" TYPE D.

L'entérotaxémie vraie du mouton, appelée aussi la "maladie du rein

pulpeux" ("pulpy kidney disease") est toxémie grave, due à l'absorption de la toxine du *Cl. welchii*, type D, à travers la paroi intestinale.

Historique.

Depuis plus d'un demi-siècle, les éleveurs de moutons en Nouvelle-Zélande avaient remarqué une maladie fatale des jeunes agneaux surtout âgés de 3-4 semaines. La maladie, en raison de la lésion très frappante des reins, était nommée «rein pulpeux» (Gill, 1929-1936).

En 1932, Bennetts a décrit une maladie chez les moutons à l'ouest de l'Australie, il l'a appelée entérotoxémie; il a pu trouver une toxine bactérienne dans l'intestin des moutons atteints de la maladie et a isolé un germe appartenant au groupe de *Cl. welchii*, qu'il a appelé *Bacillus ovitoxiens* (*Cl. welchii* type D).

Des travaux analogues furent entrepris en 1931, en Grande Bretagne, par Montgomerie et Rowlands et, en 1933, ils ont observé que la fréquence de l'entérotoxémie est inférieure dans les troupeaux où le sérum anti contre la dysenterie des agneaux est utilisé.

Actuellement, nous savons que l'entérotoxémie se rencontre chez les moutons à tous les âges et au cours de toute l'année, notamment au printemps chez les agneaux et en automne chez les moutons. La maladie a été rencontrée plus tard dans d'autres pays: Grande-Bretagne, Irlande, France, Allemagne, Turquie, Palestine, Iran, Afrique du Sud et aux Etat-Unis d'Amérique.

Etiologie.

Avant la découverte du *Cl. welchii*, type D, comme la cause de l'entérotoxémie, on admettait que la maladie était le résultat d'une intoxication à la suite de l'absorption de la toxine bactérienne (Bennetts, 1932-1926-1932).

On avait noté la présence du *Cl. welchii* dans l'intestin des moutons. Plus tard, à la suite d'études très poussées, on est arrivé à élucider la question et nous savons aujourd'hui que l'entérotoxémie est due à une pullulation rapide du *Cl. welchii* type D dans le contenu de la caillette et de l'intestin grêle et à l'absorption de ses toxines.

Les conditions dans lesquelles la pullulation du germe et la production de la toxine s'accroissent ont été interprétées par quelques Auteurs (Roberts, 1959). On admet généralement que les agneaux bien nourris, ainsi que les moutons bien portants sont plus exposés à l'entérotoxémie.

Le germe est répandu dans le sol et Bullen (1952) a montré que le *Cl. welchii* type D est présent dans l'appareil digestif de 46 moutons normaux sur 100.

Le rôle de la suralimentation a été interprété par Roberts (1938); il pense que cet organisme est très sensible à l'acidité et que la surcharge de l'estomac avec une quantité abondante de protéines, limitant l'acidité de l'estomac, permet la pullulation rapide de ce germe.

En 1957, Bullen et Batty pensent que la surcharge, chez les moutons, provoque la décharge de l'amidon non fermenté du rumen vers l'intestin grêle, donnant un milieu favorable à la culture intensive du *Cl. welchii* type D, à l'élaboration de la toxine et à l'augmentation de la perméabilité intestinale.

La maladie peut être provoquée parfois en faisant ingérer aux moutons de la culture de *Clostridium*, avec présence des germes et de la toxine dans le contenu intestinal.

Au point de vue morphologique, le *Cl. welchii*, type D, ressemble aux autres types. Les caractères de culture sont légèrement différents.

Pour la production de la toxine, il faut utiliser des techniques spéciales. Le PH doit être bien ajusté, de sorte qu'il ne tombe pas au-dessous de 6,5 à la fin de la culture.

En 1934, Bosworth et Glover avaient observé que, quand la toxine type D est mélangée avec le contenu intestinal, sa toxicité est augmentée considérablement: ils ont trouvé que cette activation est due à la trypsine. Le terme prototoxine a été donné par Turner et Rodwell (1943) à ce stade précurseur de la toxine.

Dans une culture de *Cl. welchii* type D, il y a une petite quantité de la toxine epsilon, avec une LD₅₀ pour souris de 20 ml et une grande proportion de prototoxine qui, après activation par la trypsine, arrive à donner 20,000 LD₅₀ ml pour souris. Les toxines alpha et thêta sont aussi présentes dans les cultures jeunes. Si la culture reste pendant 3-5 jours à l'étuve, une partie de la prototoxine est transformée en toxine et son activité est de l'ordre de 2.000 souris LD₅₀ ml, alors que les toxines alpha et thêta ont diminué de quantité.

La toxine, à part son action léthale, est hémolytique *in virto*, mais non *in vivo*; injectée aux cobayes et aux lapins elles produit une lésion distincte, au centre pâle et à la périphérie hémorragique. Il est possible que ce caractère soit dû à une hyaluronidase.

Epizootologie.

La maladie s'observe partout où il y a de l'élevage de moutons et à tous les âges; on l'a signalé au cours de ces dernières années dans différents pays.

Le germe se trouve dans le sol, ainsi qu'il a été montré par plusieurs auteurs. On l'a trouvé aussi dans le contenu intestinal des chevaux (Gordon, 1934,) des cobayes et de l'homme (Borthwick, 1937) et de mouton (Bullen, 1952).

Symptomatologie.

D'habitude, la maladie s'observe sous forme aiguë avec une période d'incubation très courte. La mortalité chez les agneaux infectés est élevée; on trouve des agneaux morts avant qu'on arrive à remarquer quelques signes. Quelque-fois, on peut noter des signes nerveux avant la mort de l'animal.

L'animal devient triste, paresseux, il est incapable de rester debout et il reste couché avec la tête rétractée l'animal meurt dans le coma.

Diagnostic.

La toxine epsilon du *Cl. welchii* peut se trouver dans le contenu de l'intestin grêle; on trouve à l'examen microscopique du contenu intestinal des bacilles du type de *Cl. welchii*. La culture est obtenue facilement et le *Cl. welchii*, type D, est isolé fréquemment.

L'apparition rapide de la maladie et son issue fatale au bout de quelques heures sont en faveur de l'entérotoxémie; le diagnostic peut être complété par les procédés de laboratoire: examen chimique de l'urine qui montre du glucose et la présence de la toxine dans le contenu intestinal.

Anatomie pathologique.

A l'autopse, on trouve des pétéchies sur l'épicarde et l'endocarde, des points hémorragiques autour des valvules mitrales. Souvent le liquide péricardique est abondant.

Chez les agneaux, on note une désintégration très rapide des reins, quelques heures après la mort, les reins sont devenus très mous: chez les moutons plus âgés, on ne peut pas trouver ces lésions. Parfois, on observe des pétéchies sur l'intestin.

Prophylaxie.

On a déjà montré l'action immunisante des vaccins formolés (Ben-netts, 1932; Oxeer, 1936; Dayus, 1938).

Au cours de ces dernières années, des progrès furent réalisés dans la préparation des antigènes et le résultat de l'immunisation a été satisfaisant.

L'addition de l'alun a été préconisée pour augmenter le pouvoir antigénique du vaccin. En 1941, Buddle a effectué quelques expériences

avec les divers vaccins; le vaccin formolé, sans aucun adjuvant, s'est montré inférieur, du point de vue du pouvoir antigénique, aux autres vaccins où on avait incorporé de l'alun.

Percival, Burkhart, Cooper et Martini (1954) ont trouvé en Amérique que la réaction immunitaire à 5 ml d'un vaccin formolé de culture totale auquel on a ajouté de l'alun n'est pas supérieure à 5 ml du même vaccin sans adjonction de l'alun.

Cette constatation est contradictoire avec celle qu'on a observée en Grande-Bretagne.

Roberts (1959) interprète cette différence en insistant sur les conditions de la précipitation et de l'absorption de l'antigène sur l'alun. Batty et Glenny (1948), Thomson et Batty (1953), Smith et Matsuoka (1954) ont trouvé que l'activation par la trypsine augmente le pouvoir antigène de l'anatoxine préparée avec des cultures jeunes.

En 1953, Thomson et Batty ont trouvé que la culture, formolée et précipitée par l'alun et la trypsine, donne une réaction immunitaire meilleure que les antigènes formolés utilisés seuls ou avec adjuvant.

Il est recommandé de vacciner les agneaux aussitôt que possible. Batty et coll. (1954) ont montré que les jeunes agneaux nouveau-nés répondent bien à une vaccination avec un vaccin précipité par l'alun et activé. On fait deux injections de 2 ml à un intervalle de quatre semaines.

L'antitoxine, qui confère une immunité passive, est utilisée dans certaines conditions; cette prévention, qui est de courte durée, doit être consolidée par une vaccination. Montgomerie et Thomson (1954) ont discuté les problèmes de l'établissement d'une immunité permanente.

A part l'immunisation des animaux, qui doit être effectuée régulièrement et méthodiquement au moins une fois par an lors d'apparition de l'entérotaxémie dans un troupeau, on doit changer le pâturage. Si les animaux sont nourris avec des aliments plus substantiels, on doit en diminuer la quantité. On a recommandé d'ajouter du soufre et des antibiotiques aux aliments des animaux exposés à la maladie (Christensen, 1947; Garrigue et coll., 1953; Jordans, 1952).

Traitement.

Le traitement est pratiquement inexistant. Quelquefois, on peut avoir recours à l'injection d'antitoxine au début de la toxémie.

Entérotaxémie des chèvres.

On a signalé l'entérotaxémie des chèvres due à *Cl. welchii*, type C (Barron, 1942; Thomson et Ross, 1943; Shanks, 1949). Oxer, en 1956, a

revisé cette question.

La maladie s'observe chez les chèvres, à tous les âges. Dans les formes aiguës, on note une inappétence, de la diarrhée sanguinolente et des signes de colique.

On a signalé des mouvements convulsifs avec coma et mort.

Dans les cas moins graves, la maladie peut continuer pendant quelques jours, avec inappétence et de la diarrhée.

A l'autopsie, on a trouvé des hémorragies sur l'endocarde et l'épicarde, de la congestion de l'intestin grêle et de la caillette.

ENTEROTOXEMIE DES MOUTONS ET DES CHEVRES EN IRAN.

L'entérotaxémie des ovins en Iran est connue depuis 1938. Au début, nous avons rencontré la maladie chez les moutons mérinos importés: plus tard, on a constaté que la maladie existe également chez les moutons à grosse queue du pays.

Jusqu'à 1950, notre connaissance sur l'existence de cette maladie était limitée aux alentours de l'Institut. Plus tard, les services vétérinaire provinciaux ont apporté leur contribution en envoyant des spécimens, nécessaires pour la confirmation de la maladie.

A l'heure actuelle, nous savons que la maladie existe dans les différentes parties du pays, la demande de vaccin augmente régulièrement et en 1960 l'Institut Razi a livré 3.712.166 doses de vaccin contre l'entérotaxémie.

LES SOUCHES DE «CL. WELCHII» ISOLEES EN IRAN

Nous avons isolé jusqu'à ce jour 91 souches de Clostridies toxigènes.

Parmi les *Cl. welchii*, les types A, B et D sont rencontrés. Les souches sont envoyées aussi au Wellcome Research Laboratories, en Angleterre, en vue du typage.

Le type B rencontré en Iran, en comparaison avec le même type en provenance d'autres pays, avait montré quelques différences.

Ce type de *Clostridium welchii*, qu'on isole fréquemment de l'entérite hémorragique des moutons adultes, diffère du type classique B par une légère différence de sa toxine mineure.

La kappa toxine (collagénase) se trouve dans le type B de l'Iran, alors qu'il n'existe pas dans le type B classique.

Les toxines Lambda et Hyaluronidase, qui sont produites par le

Clostridium welchii isolés et identifiés en Iran.

TYPE "CL. WELCHII"	ANIMAUX D'ORIGINE	NOMBRE DES SOUCHES ISOLEES
A	Moutons	63
A	Vaches	3
A	Poissons	9
B	Moutons	4
B	Chèvres	3
B	Chevreaux	1
B	Agneaux	2
D	Moutons	6

type B classique de *Cl. welchii*, ne se trouvent pas dans le type B de l'Iran.
Ainsi qu'on peut voir d'après le tableau suivant:

Différences antigéniques et toxiques du type B classique et du type B d'Iran.

C. welchii	Maladie	ANTIGENES TOXIQUES ET NON-TOXIQUES												
		α	β	ξ	ι	γ	δ	η	θ	κ	λ	μ	ν	
Type B classique	Dysenterie des agneaux	+++	++++	++	-	++	+	-	++	-	++	+++	++	
Type B d'Iran	Entérite hémorragique chèvre et mouton	+++	++++	++	-	?	-	-	++	+	++	-	-	+

Le type D de *Cl. welchii*, ne présente aucune différence avec le type D classique. Nous n'avons pas isolé jusqu'à ce jour le *Cl. welchii*, type C. De même nous avons isolé quelques souches toxigènes de *Cl. septicum* et *Cl. sordelli*. Le *Cl. novyi* n'a pas été rencontré en Iran.

La maladie causée par ce type chez les moutons et les chèvres en Iran est plus ou moins analogue à l'entérotaxémie vraie (rein pulpeux) elle s'observe chez les moutons plus ou moins âgés, ainsi que chez les agneaux

de quelques semaines.

Les animaux meurent très rapidement. Il est toujours difficile d'estimer le nombre des animaux qui succombent à l'entérotoémie, mais elle est actuellement une des maladies les plus sérieuses des moutons.

La maladie s'observe plus fréquemment en hiver et au printemps.

Lésions.

Nous assistons souvent à une putréfaction très avancée du cadavre. L'intestin grêle est généralement congestionné, parfois, il présente des ecchymoses, tantôt, il est uniformément rouge violacé. L'intestin est généralement vide, alors que les réservoirs gastriques contiennent des quantités plus ou moins grandes de matières alimentaires. Les reins sont parfois pulpeux. Il y a parfois un exsudat abondant dans la cavité abdominale et du liquide péricardique. Le contenu intestinal contient de la toxine et on peut isoler l'organisme en cause à partir de ces matières.

Immunisation.

Nous utilisons pour la vaccination des ovins et caprins une culture totale formolée. Le vaccin est polyvalent préparé avec des souches très toxiques du *Cl. welchii* types B, C, D, *Cl. septicum* et *Cl. novyi*

Méthode de la préparation du vaccin.

Pour préparer un lot de vaccin, nous cultivons 600 flacons de 15 litres contenant du milieu ainsi composé:

- | | |
|------------------------------------|--------|
| 1. Viande de bœuf | 15 kg |
| 2. Eau du robinet | 60 l |
| 3. Papaïne | 52,5 g |
| 4. Chlorure de sodium | 280 g |
| 5. Glucose | 300 g |
| 5. Hydrosulfite de soude | 12 g |

Le repiquage se fait en partant des souches conservées à l'état lyophilisé dans des tubes ordinaires, après 24 heures; onensemence un flacon contenant le milieu précité avec la culture obtenue dans le tube, celle-ci servira d'ensemencement pour la culture des autres flacons.

Les ballons ensemencés doivent être gardés au préalable à la température de l'étuve. Avec un siphon stérile, adapté au flacon contenant la semence, on effectue l'ensemencement des autres ballons. Chaque ballon reçoit à peu près 5 ml de la semence.

Les flacons sont incubés pendant 18 heures pour le type B et 16 heures pour les types C et D du *Cl. welchii*, 48 heures pour *Cl. septicum*

et 4 jours pour *Cl. novyi* à la température de 37° C.

Après 16 heures d'incubation du *Cl. welchii*, type D, on ajoute 0.4 p. 100 de trypsine pour activer la production de la toxine, les ballons sont encore gardés à l'étuve pendant 2 heures.

La toxicité maxima du milieu de culture est obtenue après 15 heures pour le *Cl. welchii*, types B, C et D, 48 heures pour *Cl. septicum* et 4 jours pour *Cl. novyi*.

pH du milieu pendant l'incubation.

Le pH du milieu de culture pour *Cl. welchii*, type D tombe régulièrement de 8,0 à 6,0 au début de la culture après quelques jours d'incubation, il s'élève de nouveau jusqu'au pH de départ.

Le pH des cultures de *Cl. welchii*, types B et C tombe de 7,5 à 5,0 et reste à ce stade. Il est donc nécessaire de réajuster le pH des milieux des cultures pendant l'incubation; pour obvier à cet inconvénient, nous réajustons le pH toutes les 20 minutes après 5 heures d'incubation.

Epreuve de stérilité.

On prélève un échantillon de chaque ballon, dès que la culture a été complète, 0,25 ml estensemencé dans le tube de bouillon et 0.25 ml sur la gélose. Les milieux sont gardés à l'étuve pendant 48 heures.

Addition du formol.

A chaque ballon on ajoute 0,6 p. 100 de formol; le pH est ajusté à 7,4 avec la soude caustique N/10 et les ballons sont remis de nouveau à l'étuve.

La transformation du matériel en anatoxine s'effectue au bout de 7 à 14 jours.

Les ballons sont enlevés de l'étuve et conservés jusqu'à leur utilisation dans des conditions convenables.

Epreuve biologique.

L'épreuve de l'innocuité se fait en injectant à 2 souris, par la voie sous cutanée, 0,5 ml du vaccin, les souris sont observées pendant 5 jours.

On injecte aussi 6 cobayes et 6 moutons au moyen de 5 à 10 ml de vaccin, ainsi que montre le tableau ci-dessous:

Epreuve de L'innocuité du vaccin anti-entérotoxémie.

Les animaux ainsi injectés sont observés pendant 10 jours.

Epreuve de l'innocuité du vaccin anti-entérotoxémie.

N ^{os} des animaux	Espèce	Matériel injecté	Dose	Réaction	Réaction	Résultat
				locale	générale	
39-59 . . .	Mouton	Vaccin lot 30	5 ml	Rien	Rien	Rien d'anormal
39-60 . . .	"	"	"	"	"	"
39-61 . . .	"	"	"	"	"	"
39-62 . . .	"	"	10 ml	"	"	"
39-63 . . .	"	"	"	"	"	"
39-64 . . .	"	"	"	"	"	"
39-27 . . .	Cobaye	"	5 ml	"	"	"
39-28 . . .	"	"	"	"	"	"
39-29 . . .	"	"	"	"	"	"
39-29 . . .	"	"	10 ml	"	"	"
39-31 . . .	"	"	"	"	"	"
39-32 . . .	"	"	"	"	"	"

Epreuve d'efficacité

On injecte à 6 lapins, par voie sous-cutanée, 5 ml de vaccin. Quatre semaines plus tard, on effectue une deuxième injection de la même quantité du vaccin à ces lapins.

Après 14 jours, les lapins sont saignés et le sérum est éprouvé à l'égard de la toxine epsilon et bêta du *Cl. welchii*, type D et type B.

D'habitude, le titre est de 7 U pour epsilon et de 10 U pour bêta.

Préparation des toxines bêta et epsilon.

Pour préparer les toxines bêta et epsilon du *Cl. welchii* (L.F. Schuchardt, M.S. Muñoz et W.F. Verwey, 1954), nous utilisons un milieu à base de N.Z. case, extrait de levure, phosphate dipotassique, sulfate de magnésium et glucose.

La culture de six heures des deux souches du *Cl. welchii* types B et D à 37° C, sur le milieu précité, donne après six heures d'incubation (la culture du *Cl. welchii*, type D est activée par la trypsine) le maximum de toxines bêta et epsilon.

On ajoute 70 p. 100 de sulfate d'ammonium à la toxine, après avoir éliminé les germes par centrifugation; le mélange est gardé à 5° C pendant la nuit; le lendemain, le précipité est enlevé et desséché au dessiccateur.

La toxine desséchée est pulvérisée dans un mortier, la poudre obtenue est lavée par le chloroforme sur un entonnoir à séparation et conservée dans le dessiccateur.

Pour la titration de la toxine desséchée du *Cl. welchii* bêta et epsilon. nous utilisons l'antitoxine standard international du *Cl. welchii*, types B et D.

RESUME

1° En raison de l'importance, naguère considérable, d'autres maladies des animaux domestiques au Proche-Orient, on n'avait pas étudié les toxémies dues à des groupes de *clostridium*, notamment *welchii* B, C et D. Ces maladies deviennent de plus en plus importantes dans nos régions et il est nécessaire que des laboratoires spécialisés étudient très sérieusement l'aspect, un peu particulier, de ces toxi-infections, en vue de mieux connaître l'aspect de ces maladies et de préparer des antigènes d'une efficacité beaucoup plus satisfaisante.

2° L'étude générale et sommaire des toxi-infections dues à des *Clostridium welchii*, types B, C et D est envisagée.

3° Les entérotoxémies s'observent en Iran assez fréquemment chez les moutons et chez les chèvres, à tous les âges.

4° Les souches de *Cl. welchii*, types B et D sont isolées fréquemment en Iran.

Le *Cl. welchii* type B de l'Iran est légèrement différent du type B classique.

5° Un vaccin polyvalent, culture totale formolée, est utilisée, pour la prophylaxie de la maladie.

La technique de la préparation du vaccin est donnée.

RESUMEN

1. En razón de la importancia, considerable hasta hace poco, de otras enfermedades de animales domésticos en el Cercano Oriente, no se habían estudiado las toxemias debidas a grupos de *Clostridium*, principalmente *welchii* B, C y D. Estas enfermedades adquieren cada vez más importancia en muestras regiones, y es necesario que laboratorios especializados estudien muy seriamente el aspecto un tanto particular de estas toxi-infecciones, para conocer mejor el aspecto de estas enfermedades y

preparar mejor los antígenos con una eficacia más satisfactoria.

2. Se considera el estudio general y sucinto de las toxiinfecciones debidas a *Clostridium welchii*, tipos A, C, y D.

3. En Irán, se observan con bastante frecuencia las enterotoxemias en los ovinos y caprinos, de todas las edades.

4. Las cepas de *Cl. welchii* tipos B y D se aíslan frecuentemente en Irán.

El *Cl. welchii* tipo B de Irán es ligeramente diferente al tipo B clásico.

5. Para la profilaxis de la enfermedad, se utiliza una vacuna polivalente, cultivo total formulado.

Se da la técnica de preparación de la vacuna.

BIBLIOGRAPHIE

- BARRON (N. S.) (1942). — *Vet. Rec.*, 54, 28.
- BATTY (I.), THOMSON (A.) et HEPPLÉ (J. R.) (1954). — *Vet. Rec.* 66, 249.
- BATTY (I.) et GLENNY (A. T.) (1948). — *Birt. J. Exp. Path.*, 29, 141.
- BENNETTS (H.W.) (1932). — *Aust. Inst. Sc. Indus. Bull.*, 57, 1.
- BORTHWICK, (G. R.) (1937). — *Brit. J. Exp. Path.*, 18, 475.
- BOSWORTH (T. J.) et GLOVER (R. E.) (1934). — *Rep. Dir. Inst. Ann. Path. Camb.*, 4, 79.
- BOSWORTH (T. J.) (1943). — *J. Comp. Path. Ther.*, 53, 245.
- BOYD (M. J.), LOGAN (M. A.) et TYTELL (A. A.) (1948). — *J. Biol. Chem.*, 174, 1913.
- BROOKS (M. E.), STERNE (M.) et WARRACK (G. H.) (1957). — *J. Path. Bact.*, 74, 185.
- BROOKS (M. E.) et ENTESSAR (F.) (1959). — *Arch. Inst. Razi*, 11, 20.
- BUDDLE (M. B.) (1954). — *J. Comp. Path.*, 64, 217.
- BULLEN (J. J.) (1952). — *J. Path. Bact.*, 64, 201.
- BULLEN (J. J.) et BATTY (I.) (1957). — *J. Vet. Rec.*, 69, 1268.
- CHRISTENSEN (J. F.), DEEM (M. A. W.), ESPLIN (A. L.) et CROSS (F.) (1947). — *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 111, 144.
- DALLING (T.), ALLEN (H. R.) et MASON (J. H.) (1925). — *Vet. Rec.*, 5, 561.
- DALLING (T.) (1928). — *Nat. Vet. Med. Ass.*, 1927-32, 55.
- DAYUS (C. V.) (1938). — *Aust. Vet. J.*, 14, 234.
- FIELD (H. I.) et GIBSON (E. A.) (1955). — *Vet. Rec.*, 67, 31.
- GAIGER (S. H.) et DALLING (T.) (1923). — *J. Comp. Path. Ther.*, 36, 120.

- GAIGER (S. H.) (1920). — *Scot. J. Agric.*, 3, 174.
- GARRIGUS (U. S.), KAMMLADE (W. G.), BOLEY (L. E.) et HARDENBROOK (H.) (1953). — *J. Animal Sc.* 12, 474.
- GILL (A. D.) (1932). — *Vet. J.* 89, 899.
- GLENNY (A. T.), BARR (M.), LLEWELLYN-JONES (M.), DALLING (T.) et ROSS (H. E.) (1933). — *J. Path. Bact.* 37, 53.
- GORDON (W. S.) (1934). — *Vet. Rec.* 14, 1.
- GRINER (L. A.) et JOHNSON (H. W.) (1954). — *J. Am. Vet. Med. Ass.* 125, 125.
- GRINER (L. A.) et BRACKEN (K.) (1953). — *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 122, 99.
- HEPPLE (J. R.) (1952). — *Vet. Rec.* 64, 633.
- JORDAN (R. M.) (1952). — *J. Animal Sc.* 11, 566.
- KAPLAN (M. M.) (1946). — *J. Am. Vet. Med. Ass.* 109, 25.
- KATITICH (R. V.) et DIMITRIJEVITCH (V.) (1954). — *Rec. Med. Vet.* 130, 488.
- MAC FARLANE (R. G.), OAKLEY (C. I.) et ANDERSON (C. G.) (1941). — *J. Path. Bact.* 52, 99.
- MC EWEN (A. D.) et ROBERTS (R. S.) (1931). — *J. Comp. Path.*, 44, 26.
- MC EWEN (A. D.) (1930). — *J. Comp. Path.*, 43, 1.
- MONTGOMERIE (R. F.) et THOMSON (A.) (1954). — *Vet. Rec.*, 66, 813.
- OAKLEY (C. L.) et WARRACK (G. H.) (1953). — *J. Hyg.*, 51, 102.
- OXER (D. T.) (1936). — *Aust. Vet. J.* 12, 54.
- PERCIVAL (V. M. D.), BURKHART (R. L.), COOPER (M. S.) et MARTINI (F. V.) (1954). — *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 125, 236.
- ROBERTS (R. S.) (1933). — *J. Comp. Path. Ther.*, 46, 56.
- ROBERTS (R. S.) (1938). — *Vet. Rec.* 50, 591.
- SCHUGHARDT (L. F.), MUNOZ (M. S.) et VERVEY (W. F.) (1954). — *Am. J. Vet. Res.*, 15, 316.
- SHANKS (P. L.) (1949). — *Vet. Rec.*, 61, 262.
- SMITH (L. D.) et MATSUOKA (T.) (1954). — *Am. J. Vet. Res.*, 15, 361.
- STABLEFORTH (A. W.) et GALLOWAY (I. A.) (1959). — *Infectious Diseases of Animals*, London. *Butterworths Scientific Publication*, vol. 1 : Clostridial Diseases, par R. S. Roberts, 160-228.
- THOMSON (A.) et BATTY (I.) (1953). — *Vet. Rec.*, 65, 659.
- THOMSON (A.) et ROSS HELLEN (E.) (1943). — *Vet. Rec.*, 55, 127.
- TURNER (A. W.) et RODWELL (A. W.) (1943). — *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sc.*, 21, 17.
- VEILLON et ZUBER (1898). — *Arch. Med. Exp. Anat. Path.* (Paris), 10, 517.
- WEINBERG (M.), GUILLAUMIE (M.) et STAUB (A.) (1935). — *Bull. Acad. Vet. France*, 8, 505.

- WELCH (W. H.) et NUTTAL (G. H. F.) (1892). — *Bull. John Hopkins Hosp.*,
3, 81.
- WILSDON (A. J.) (1933). — *3rd Rep. Dir. Inst. Ann. Path. Comb.* p. 46.
- ZEISSLER et RASSFELD-STERNBERG (L.) (1949). — *Brit. M. J.*, 1, 267.