

Clostridium perfringens et pathologies digestives

DAUBE G.

Université de Liège, Faculté de Médecine Vétérinaire,
Chaire de Bactériologie et des Maladies Bactériennes
(Prof. A. Kaeckenbeeck),
Bld de Colonster, Sart-Tilman, Bât. B43, 4000 Liège, Belgique.

Manuscrit déposé le 10/12/1991.

INTRODUCTION

Clostridium perfringens (*C. perfringens*) est une bactérie anaérobie, aérotoleérante, positive à la coloration de Gram et se présente comme un bâtonnet de 4 sur 1,5 microns aux bords parallèles et aux extrémités légèrement arrondies (Cato et al., 1986). Cette espèce bactérienne cosmopolite se trouve dans le tube digestif de toutes les espèces animales et de l'homme (Niilo 1980) ainsi que dans le sol (Prévot et al., 1967). Sa capacité de sporulation lui permet de mieux résister dans le milieu extérieur et donc de se propager, directement ou par l'intermédiaire d'aliments souillés (Istamatin et Ungureanu, 1967, Katitch 1987).

Cette bactérie peut synthétiser toute une série d'enzymes ou toxines dont les principales propriétés sont reprises dans le Tableau 1 (MacDonel 1980).

L'histoire révèle que les souches de *C. perfringens* ont été réparties en 5 types (A, B, C, D, E) selon leur capacité de synthèse de quatre exotoxines létales pour la souris et appelées, pour cette raison, toxines létales majeures (α , β , ϵ , ι) (Tableau 2) (Wildson 1933, Brooks et al., 1957, Smith 1975, MacDonel 1980). Ces 5 toxinotypes ont été subdivisés selon leur profil de production des toxines

TABLEAU 1
Toxines produites par *Clostridium perfringens*

Toxine	Activité biologique	Effet pathologique
alpha	phospholipase - lécithinase, hémolysine, nécrotique, léthale (détruite par la trypsine)	hémolytique - leucocytaire - dégénérescence membranaire
bêta	nécrotique, léthale (détruite par la trypsine)	nécrose de la muqueuse intestinale
epsilon	augmentation de la perméabilité capillaire, nécrotique, léthale (activée par la trypsine)	oedème périvasculaire nécrose cérébrale et rénale
iota	augmentation de la perméabilité capillaire, nécrotique, léthale (activée par la trypsine)	nécrose de la muqueuse intestinale
entérotoxine	vérocytotoxique, entérotoxique (résistante à la trypsine)	entérotoxine
delta	hémolysine, léthale*	non démontré
thêta	hémolysine, cytolysine, léthale*	non démontré
non alpha/delta/thêta	hémolysine	non démontré
kappa	collagénase, gélatinase, léthale* nécrotique	non démontré
lambda	protéase (gélatinase, caséinase ..)	non démontré
mu	hyaluronidase	non démontré
nu	désoxyribonucléase	non démontré
neuraminidase	sialidase (acide N-acétyl- -neuramique glycohydrolase)	non démontré

* létalité seulement après concentration.

Clostridium perfringens et pathologies digestives

INTRODUCTION

REMARQUES PRÉLIMINAIRES

AFFECTIONS LIÉES AUX DIVERSES CATÉGORIES DE *C. PERFRINGENS*

1. *C. perfringens* type A non entérotoxigène

Espèce porcine

Espèce bovine

Espèces ovine et caprine

Espèce équine

Espèces canine et féline

Volailles

2. *C. perfringens* producteur de toxine bêta (toxinotypes B et C)

Espèce porcine

Espèce bovine

Espèces ovine et caprine

Espèce équine

Espèce humaine

Volailles

3. *C. perfringens* producteur de toxine epsilon (toxinotype D)

Espèce bovine

Espèces ovine et caprine

Espèce équine

Espèce humaine

Autres espèces

4. *C. perfringens* producteur de toxine iota (toxinotype E)

5. *C. perfringens* type A entérotoxigène

Espèce humaine

Espèce porcine

Espèce canine

Espèce ovine

Espèce bovine

Volailles

DISCUSSION

BIBLIOGRAPHIE

TABLEAU 2
Toxinotypes majeurs de *Clostridium perfringens*

Toxinotypes	Toxines			
	Alpha	Bêta	Epsilon	Iota
A	++	-	-	-
B	+	++	+	-
C	+	++	-	-
D	+	-	++	-
E	+	-	-	++

++ principale toxine produite.
+ toxine secondaire produite en général en moindre quantité.
- toxine non produite.

TABLEAU 3
Toxinotypes mineurs

D'après Niilo 1980

Toxinotype	Groupe	Toxines produites									
		α	β	ε	ι	ent*	δ	θ	κ	λ	μ
A	1	++	-	-	-	-	-	++	++	-	++
	2	++	-	-	-	++	-	+	++	-	++
B	1	++	++	++	-	-	-	++	-	++	++
	2	++	++	++	-	-	-	++	++	-	-
C	1	++	++	-	-	-	++	++	++	-	-
	2	++	++	-	-	-	-	++	++	-	-
	3	++	++	-	-	-	-	++	+	-	+
	4	++	++	-	-	-	-	++	+	-	++
	5	++	++	-	-	++	-	-	-	-	-
D		++	-	++	-	-	-	++	++	+	++
E		++	-	-	++	-	-	++	++	++	+

++ produite par toutes ou la plupart des souches.
+ produite par moins de 50 % des souches.
- non produite.
* entérotoxine
(tous les toxinotypes n'ont pas encore été testés vis-à-vis de ce facteur, d'où possibilités d'erreurs par défaut).

dites «mineures» (Tableau 3) (Niilo 1980, Sterne 1981).

Seules les souches de toxinotype A semblent persister longtemps dans le sol et même s'y multiplier (Smith 1975).

Cette classification, outre son intérêt taxonomique, a été mise en relation avec les maladies associées à chaque toxinotype afin d'éclairer leur pathogénie. D'excellentes études et revues du problème ont été réalisées par Niilo (1980) et Sterne (1981) (Tableau 4).

Les différents sous-types ont été définis à partir d'un échantillon réduit de souches originaires de régions géographiques limitées et semblent, du moins pour certains d'entre eux, devoir être remis en question (Dholakia et al., 1981) tant que des moyens de diagnostic plus pratiques ne seront pas disponibles. Une simplification de la classification semble s'imposer au vu des pathologies décrites, même si certains marqueurs épidémiologiques se révèlent utiles pour le diagnostic de certaines souches. Cette classification repose, non plus sur le toxinotype, mais sur la toxine principalement produite par la souche lors de la maladie observée, c'est-à-dire, dans l'état actuel de nos connaissances, l'une des quatre toxines létales majeures et l'entérotoxine.

Une souche de base constituée d'un *C. perfringens* type A non producteur d'entérotoxine est définie, à laquelle viennent s'adjoindre diverses potentialités supplémentaires (toxines β, ε, ι ou entérotoxine). La possibilité pour les gènes de certains de ces facteurs d'être portés par des supports extrachromosomiques mobiles est un argument en faveur de cette classification. L'entérotoxine et l'alpha-toxine semblent être codées par des gènes situés sur le chromosome (Canard et Cole, 1989, Iwanek et al., 1989, Rood et Cole, 1991) mais le gène de la toxine bêta a été rapporté comme plasmidique (Rokos et al., 1978).

Nous avons donc cinq catégories de souches. Celles de type A non entérotoxigènes, celles produisant essentiellement de la toxine bêta, de la toxine epsilon, de la toxine iota ou

TABLEAU 4

Pathologies associées aux divers toxinotypes de *Clostridium perfringens*

D'après Sterne 1981, Niilo 1980 et Niilo 1986a.

Toxinotype	Symptomatologie associée	espèces - cibles	distribution
A1	gangrène gazeuse mamitte entérite nécrotique colite commensal de l'intestin sol	homme, (animal) bovin volaille équins homme, animal	cosmopolite G-B, Japon cosmopolite Scandinavie cosmopolite cosmopolite
A2	intoxication alimentaire	homme	cosmopolite
B1	"lamb dysentery"	ovins, bovins, équins	Afrique du Sud, G-B
B2	entérotoxémie	ovins, caprins	Iran
C1	"struck"	ovins	Afrique du Sud, G-B Australie
C2	entérite nécrohémorragique	ovins, bovins, équins	USA, G-B
C3	entérite nécrohémorragique	porcelet	USA, G-B, Scandinavie
C4	entérite nécrohémorragique	homme, volaille	Allemagne
C5	entérite nécrohémorragique	homme	Papouasie Nouvelle-Guinée
D	entérotoxémie	ovins, caprins, bovins	cosmopolite
E	entérotoxémie	ovins, bovins	G-B, Australie

de l'entérotoxine. Le Tableau 5 montre les divers regroupements opérés par rapport au Tableau 4. Chaque groupe sera repris dans cette synthèse suivant les pathologies digestives qui lui sont propres. Les éventuelles toxines associées se-

TABLEAU 5

Définition des nouvelles catégories (cfr texte)

Catégorie	Facteur de virulence principal responsable de la pathologie observée	Toxinotypes impliqués
1	toxine alpha	Type A non entérotoxigène
2	toxine bêta	Type B non entérotoxigène* Type C non entérotoxigène Type C entérotoxigène
3	toxine epsilon	Type D non entérotoxigène Type D entérotoxigène
4	toxine iota	Type E*
5	entérotoxine	Type A entérotoxigène

* La production de toxine epsilon pourrait être le facteur essentiel des cas d'entérotaxémie du mouton ou de la chèvre adulte provoqués par le type B en Iran (cfr Tableau 4).

* la production d'entérotaxine par ce type de souche n'a pas été étudiée.

ront mentionnées là où elles pourraient intervenir dans la pathogénie. Les nuances taxonomiques, peut-être utiles à une distinction fine entre souches ou à une étude du support génétique de certains facteurs de virulence, seront négligées ici par clarté. Il serait d'ailleurs prématuré de tenir compte des toxines «mineures» car, la plupart du temps, les anticorps neutralisants utilisés pour le diagnostic sont des anticorps antitoxinotypes majeurs (sans vérification des valences mineures). Cette constatation rend également très aléatoire des explications concernant la pathogénie des différentes affections car les antigènes mineurs sont le plus souvent ignorés dans le diagnostic. Ces toxines étant des enzymes actives sur certains constituants de l'organisme-hôte ne sont pas nécessairement dénuées d'importance. Des tests basés sur des anticorps spécifiques de chaque

toxine pourraient, dans l'avenir, se révéler essentiels pour déterminer les facteurs de virulence nécessaires et suffisants pour développer chaque affection. L'utilisation de souches génétiquement modifiées pourrait également aider à répondre à certaines questions (Rood et Cole, 1991).

Les chapitres suivants vont décrire dans l'ordre les maladies liées aux cinq catégories définies ci-dessus. Pour chacune d'entre elles, après une brève introduction concernant la principale toxine incriminée, viendra une description de la pathologie par espèce atteinte; elle fera référence à la maladie naturelle, à son diagnostic et à sa prophylaxie ainsi qu'à une éventuelle reproduction expérimentale.

REMARQUES PRELIMINAIRES

Le diagnostic des affections liées à *C. perfringens* est basé sur l'isolement en grand nombre, la plupart du temps à partir de l'intestin grêle, de souches de *C. perfringens* et de leur typage ultérieur, souvent jusqu'à la mise en évidence des toxines majeures, plus rarement jusqu'à la recherche de certaines toxines mineures et de l'entérotaxine. Dans certains cas, les toxines sont également recherchées dans le contenu intestinal. Vu la présence de cette espèce bactérienne dans l'intestin de pratiquement tous les individus sains (Smith et Crabb, 1961, Correa 1986) (Tableau 6), un simple isolement ne signifie pas son implication dans la pathologie observée. Même si aucun autre pathogène connu n'a pu être isolé concomitamment, on ne peut exclure l'intervention d'un agent non encore identifié. C'est ainsi que beaucoup de cas attribués à un *C. perfringens* de type A sont à considérer avec beaucoup de réserves si une étude sur le nombre et la proportion relative de ces germes dans la flore totale de l'intestin n'a pas été réalisée en même temps que l'isolement (Niilo 1980).

De plus, la plupart des études publiées considèrent une seule souche par cas avec un choix arbitraire de la zone de l'intestin analysée, du protocole d'isolement et de la souche.

TABLEAU 6
Médianes et écarts de comptages des formes viables de *Clostridium perfringens* dans les faeces

Comptages effectués sur 10 individus en bonne santé par espèce)

d'après Smith 1975

Espèce	logarythme du nombre de formes viables par gramme de faeces	
	médiane	écarts
Bovins	2,3	0 à 3,3
Ovins	4,3	1,7 à 5,9
Equins	0	0 à 2,3
Cobaye	0	0 à 2,3
Porcins	3,6	2,8 à 5,7
Poulets	2,4	0 à 4,4
Lapins	0	0
Chiens	8,4	4,7 à 9
Chats	7,4	5,5 à 9
Souris	0	0 à 2,6
Homme	3,2	0 à 5,9

Certaines études (Correa 1986) ont montré que les souches entérotoxigènes sporulent dans l'intestin en produisant de l'entérotoxine. Une recherche de ce type de souche devrait donc logiquement s'intéresser aux souches sporulées de l'intestin et non seulement aux souches en forme végétative. Toutes ces remarques expliquent en partie la difficulté de description d'un tableau pathologique clair lié à certains types de *C. perfringens*.

AFFECTIONS LIEES AUX DIVERSES CATEGORIES DE *C. PERFRINGENS*

1. *C. perfringens* type A non entérotoxigène

S'il est un type de *C. perfringens* dont l'appréciation de l'implication dans une maladie est difficile, c'est bien celui-là. Il fait partie de la flore du sol où il peut se multiplier et sporuler (Smith 1975). On peut l'isoler du tube digestif de toutes les espèces animales (Prévot et al., 1967). Un régime alimentaire riche en protéines provoque une élévation du nombre de *C. perfringens* dans l'intestin grêle (Mansson et Smith, 1962) de même que certains stress comme, par exemple, un long trajet en train (Brant et al., 1978).

Outre les pathologies d'origine intestinale, ce type est impliqué, depuis la première guerre mondiale, dans la gangrène gazeuse chez l'homme (revue par Prévot et al., 1967) suite à une inoculation parentérale accidentelle. La littérature ne mentionne pas son intervention dans ce type de lésion chez l'animal (Williams 1977) sauf dans le cas de l'inoculation expérimentale chez le cobaye.

Espèce porcine

Chez le porc, Mansson et Olhagen, (1967) montrent qu'un régime hyperprotéique provoque une pullulation de *C. perfringens* type A dans l'intestin avec des lésions d'hyperkératose et d'arthrite qu'ils attribuent à une réaction d'hypersensibilité liée aux immun-complexes toxine alpha-antitoxine alpha circulants. Plusieurs rapports (Moons 1972, Amstberg et al., 1976, Ramisse et al., 1979, Olubunmi et Taylor, 1985) rendent *C. perfringens* type A responsable de lésions de l'intestin et de diarrhée mortelle chez les jeunes porcelets. Olubunmi (1982) reproduit expérimentalement cette pathologie chez des porcs nés par hystérectomie et privés de colostrum ainsi que sur des porcs conventionnels sevrés. Chez ces derniers, les lésions sont localisées à l'intestin grêle avec congestion et oedème de la muqueuse et atrophie des villosités tandis que les selles sont liquides et contiennent des quantités variables de mucus et de sang. Deux autres études avec (Nabuurs et al., 1983) ou sans reproduction de la maladie (Secasiu 1984) montrent une corrélation entre l'élévation du nombre de *C. perfringens* type A dans le contenu intestinal et l'apparition de la maladie. Aucune recherche d'entérotoxine n'a été effectuée lors de ces études et donc l'interprétation de ces observations en est rendue difficile.

Correa en 1986, utilise une souche de type A non entérotoxigène pour reproduire expérimentalement la maladie sur des porcelets de 1 et 8 jours obtenus par hystérectomie et privés de colostrum. Chez les animaux les plus jeunes l'infection est

fatale pour la plupart des sujets. Il observe chez ceux-ci une distension du jéjunum et de l'iléon par du gaz et du liquide et de la congestion de la muqueuse. Chez les porcelets de 8 jours, la maladie ne s'est pas révélée mortelle mais s'est traduite par une diarrhée crémeuse et profuse et des lésions de congestion de la muqueuse jéjunale et iléale. Ces observations sont comparables à celles observées sur des cas cliniques de diarrhée survenant naturellement chez des porcelets du même âge. L'administration de sérum, colostrum ou lait de truie hyperimmunisée avec de l'anatoxine alpha ou des corps bactériens de *C. perfringens* type A protège les animaux des effets de l'inoculation expérimentale sans qu'on puisse attribuer cette protection aux anticorps anti-toxine alpha uniquement car tous les sérums utilisés contenaient des anticorps contre d'autres composants immunogènes de *C. perfringens*. Le nombre de *C. perfringens* de type A dans les selles et dans tout le tractus digestif des animaux immunisés passivement est moindre que chez les animaux contrôles.

Espèce bovine

Chez le bovin, outre des cas de mammite où *C. perfringens* est impliqué seul ou en combinaison avec d'autres bactéries (Shirahata et al., 1969, Robinson et Manser, 1977, Johnston 1986), *C. perfringens* type A est soupçonné de causer des syndromes pathologiques d'origine intestinale. Rose et Edgar en 1936, suspectent une entité qu'ils appellent l'«ictéro-hémoglobinurie du veau». Cette affection, proche dans sa symptomatologie de celle attribuée à *Clostridium haemolyticum*, atteint des veaux de 2 semaines à 4 mois avec une forte mortalité; le contenu de l'intestin contient une toxine létale neutralisée dans ses effets biologiques par de l'antisérum anti-type A de *C. perfringens*. Ils isolent ce germe. Une administration de sérum anti-type A de *C. perfringens* protège contre l'affection. En 1937, Lesbouyries et Berthelon rapportent un cas d'entérotoxémie sans ictère chez un veau avec isolation de *C. perfringens* type A. Ces deux der-

nières études pêchent cependant en négligeant la recherche de toxines dans le contenu intestinal.

En 1943, Macrae et Murray décrivent un syndrome de mort brutale chez des veaux de 1 semaine à deux mois avec peu de symptômes si ce n'est parfois un peu de diarrhée précédant le coma et la mort. Les lésions essentielles sont celles d'entérite ou de gastroentérite, congestion des vaisseaux du mésentère, effusions péricardique, pleurale et péritonéale, ainsi que des pétéchies sur le cœur et le foie. De nombreux *C. perfringens* sont retrouvés dans l'intestin grêle mais seulement deux souches furent typées et se sont révélées de type A. Un sérum anti-type B s'est révélé protecteur tant en prévention qu'en thérapeutique lorsqu'une administration précoce fut possible. Les preuves qu'il s'agisse ici d'une pathologie due à *C. perfringens* ne semblent pas suffisantes. En 1955, Schofield et Frank décrivent une pathologie semblable chez des veaux de 1 à 3 mois, avec un pic entre 6 à 10 semaines. Ici également des souches de *C. perfringens* type A sont isolées et une immunisation passive ou active (type de vaccin non précisé) semble supprimer l'apparition de nouveaux cas.

Shirley (1958) rapporte des cas d'entérite aiguë chez des vaches en post-partum, avec mise en évidence dans l'intestin de toxines létales qui sont neutralisées par un antiserum préparé contre *C. perfringens* type A. Prévot et al. (1961) rapportent 18 cas d'isolement de *C. perfringens* type A, dont 6 cas d'animaux morts d'entérotaxémie. En 1961 également, Mumford décrit un syndrome proche de celui décrit par Macrae et Murray (1943) mais soupçonne plutôt le type D de *C. perfringens* bien qu'il n'en apporte pas la preuve. En 1962, Griessemmer et Krill rapportent des cas similaires, où le contenu intestinal léthal est neutralisé à la fois par les antisérums anti-type D et C (anti-type A non disponible); ils suggèrent une prophylaxie hygiénique et médicale (toxoides ou antitoxines polyvalents) qui semble efficace.

Toutes ces études laissent planer un doute sur l'identité du type de *C. perfringens* impliqué. En 1987, Wor-

ral et al. (1987) rapportent un épisode de mortalité importante chez des buffles d'eau soumis à un transport et un changement de régime alimentaire. Ils constatent essentiellement de la congestion du tube digestif, du cerveau et de la vessie, de l'oedème pulmonaire ainsi que la présence d'exsudat fibrineux dans le sac péricardique. La muqueuse de l'intestin grêle est couverte de bâtonnets positifs à la coloration de Gram; ils isolent des *C. perfringens* de type A de ces mêmes échantillons. Ils détectent la présence de toxine alpha dans le sérum, le poumon, le foie et l'intestin grêle d'un buffle mort et une séroconversion vis-à-vis de cette même toxine chez tous les survivants. Sigurdarson et Thorsteinsson (1990) rapportent des cas de mort subite chez des vaches laitières en production avec isolement de *C. perfringens* type A en culture pure dans l'intestin.

Depuis quelques années, *C. perfringens* type A est soupçonné comme un agent responsable d'une inflammation de la caillette chez le veau qui peut aller jusqu'à l'ulcère perforant (Al-Mashat et Taylor, 1983, Roeder et al., 1987); Roeder et al. en 1987 ont pu reproduire cette affection par administration intraruménale d'une culture de *C. perfringens* type A.

Jusqu'ici aucun modèle expérimental d'entérotaxémie à *C. perfringens* type A chez le bovin n'est disponible. Niilo et al. (1963) n'ont pu reproduire qu'une diarrhée passagère chez une partie des animaux inoculés par administration intraduodénale ou orale d'une culture de *C. perfringens* type A et Lozano et al. (1970) ont provoqué une diarrhée sévère chez deux veaux après administration *per os* mais les deux animaux avaient été privés de colostrum et donc l'expérience ne permet pas de tirer de véritables conclusions. Enfin Niilo et al., en 1963, ont injecté des filtrats de culture de *C. perfringens* type A par voie intraveineuse et ont observé des hémorragies disséminées dans tout l'organisme de deux animaux morts en 5 minutes après un épisode de détresse respiratoire. Les lésions constatées sont proches de celles

décrites en 1936 par Rose et Edgar dans les cas d'ictère hémoglobinique.

Espèces ovine et caprine

Chez le mouton, deux publications (Rose et Grahame 1936, MacGowan et al., 1958) décrivent une maladie rapidement mortelle chez des animaux d'âge différent mais avec le même tableau clinique caractérisé par des hémorragies et de l'hémolyse généralisée avec mise en évidence d'une toxine neutralisée par de l'antisérum anti A dans le contenu intestinal et isolement de *C. perfringens* type A en grand nombre dans l'intestin grêle. MacGowan et al., en 1958, excluent l'intoxication au cuivre et la leptospirose dans ce syndrome. Russell, en 1970, décrit un syndrome identique chez trois bouquetins en captivité. En 1937, Lesbouyries et Berthelot rapportent des mortalités dans des élevages caprins et la toxicité du contenu de l'intestin des animaux morts est neutralisée par de l'antisérum préparé contre *C. perfringens* type A. En 1961, Prévot et al. rapportent sept foyers d'entérotaxémie du mouton adulte avec mise en évidence de seulement *C. perfringens* type A. Popoff et al. en 1982, font de même en étudiant le contenu de l'intestin d'agneaux de moins d'un mois atteints d'entérite. Enfin Katitch rappelle, en 1987, trois foyers de forte mortalité d'agneaux (jusqu'à 39 %) nourris avec des aliments concentrés ou de lait reconstitué qui se sont produits dans les années soixante en Roumanie. Il détecte dans l'intestin des animaux comme dans les aliments incriminés des souches de *C. perfringens* type A fortement toxigènes.

Gordon et al. en 1940 et MacGowan et al. en 1958, reproduisent les symptômes et les lésions caractéristiques de la maladie décrite ci-dessus en injectant du surnageant de culture de *C. perfringens* type A, par voie intraveineuse, à des agneaux.

Espèce équine

Chez le cheval, Wierup, en 1977, étudie un syndrome diarrhéique

chez des chevaux de course en Suède. Il rapporte 31 cas de cette affection dont 12 mortels rapidement avec des lésions de caeco-colite hémorragique et d'angiopathies disséminées dans tout l'organisme. Par comparaison avec des chevaux sains, chez les animaux malades le comptage de *C. perfringens* type A est significativement plus élevé (jusqu'à 10^7 CFU/g de selles contre moins de 10 CFU/g) et il y a une corrélation entre le nombre de ces bactéries et la gravité de l'affection. Il démontre également dans le sang un taux plus élevé en anticorps précipitants contre les antigènes extracellulaires produits par *C. perfringens* type A. Cependant l'élévation des anticorps neutralisant l'activité hémolytique de la toxine alpha de *C. perfringens* n'est pas significativement plus importante chez les animaux qui ont été malades. Expérimentalement, il parvient à augmenter le nombre de *C. perfringens* type A dans les selles de chevaux de course en leur administrant une alimentation plus riche en protéines. L'administration d'un bouillon de culture de *C. perfringens* type A par voie orale provoque, après trois doses, des symptômes proches de ceux de la maladie naturelle mais pas d'augmentation lors du comptage de *C. perfringens* fécaux. L'auteur suggère comme causes favorisant cette affection: une alimentation riche en protéines, des facteurs de stress (chevaux de course à l'entraînement,...) et certains traitements antibiotiques (tétracyclines,...). Le même auteur rapporte d'autres cas en 1981 (Wierup et Di-pietro, 1981) dont 2 morts de colite hémorragique postchirurgicale avec un nombre élevé de *C. perfringens* type A (10^7 et 8.10^4 CFU/g de selles respectivement).

En 1986, Al-Mashat et Taylor étudient la flore fécale de chevaux souffrant de pathologies digestives. Dans 8 cas dont trois avec diarrhée, il isole *C. perfringens* type A en grand nombre et constate des lésions dans l'intestin grêle mais surtout dans le gros intestin avec dilatation des capillaires et des cryptes intestinales ainsi qu'une nécrose de la muqueuse. Enfin Dart et al. en 1988 décrivent un cas d'entérotoxé-

mie chez un poulain de 2 jours; les symptômes et les lésions relevés sont semblables à ceux observés lors d'entérite nécrotique décrite chez le cheval suite à une pullulation de *C. perfringens* type B et C mais l'auteur ne parvient qu'à isoler *C. perfringens* type A des lésions.

Espèces canine et féline

Chez les carnivores, les *C. perfringens* type A sont présents en grand nombre à l'état normal dans tout l'intestin (Smith et Crabb, 1961) mais cette bactérie est impliquée (Prescott et al., 1978) dans un syndrome de gastroentérite hémorragique chez des chiens adultes; les lésions entreprennent toute la longueur du tube digestif mais sont les plus accusées au niveau du colon; des bâtonnets Gram positifs sont fermement associés à la muqueuse digestive dans un cas et un grand nombre de *C. perfringens* sont isolés de l'intestin. Un isolat s'est révélé non toxinogène et donc a pu être assimilé au type A. En 1979, Berg et al. rapportent également six cas de gastroentérite hémorragique (5 chiens et un chat) avec présence d'un grand nombre de *C. perfringens*. Ils ne typent pas les souches isolées. Enfin, Brière en 1983 rapporte 4 cas de mort rapide chez des chiens adultes avec symptômes digestifs et trouve *C. perfringens* en grand nombre dans l'intestin. Les symptômes et lésions décrits dans ces trois publications ressemblent à ceux attribués à *C. perfringens* type B ou C dans d'autres espèces animales mais dans ces cas les lésions se situent essentiellement au niveau du jéjunum et de l'iléon. Le peu de paramètres enregistrés et le petit nombre de cas rapportés ne permettent pas de déterminer si *C. perfringens* type A est l'agent primaire ou secondaire de ce syndrome. Cet aspect de facteur secondaire éventuel est d'ailleurs plus clairement illustré dans des cas d'invagination intestinale (Berg et al., 1979, Okewole et al., 1989) où une pullulation de *C. perfringens* type A est observée. Le typage d'un plus grand nombre de souches devrait être mené pour exclure l'intervention d'autres toxino-

D'un autre côté, Carman en 1983 incrimine *C. perfringens* type A dans un cas de diarrhée chronique chez un chien adulte. Il retrouve dans les selles de cet animal un grand nombre de *C. perfringens* type A (formes végétatives et sporulées) et une toxine létale neutralisée par de l'antisérum anti-type A. Un traitement au métronidazole et un régime approprié font disparaître la diarrhée et concomitamment diminuent le nombre de *C. perfringens* type A dans les selles.

Kruth et al., en 1989, décrit lui, une diarrhée d'origine nosocomiale associée avec une augmentation du nombre de *C. perfringens* sporulés fécaux mais il attribue les symptômes à l'entérotoxine de *C. perfringens* qu'il détecte grâce à un test ELISA spécifique. Cependant, il ne recherche pas la présence de la toxine alpha. De plus, la grande variété de sérotypes isolés des animaux atteints ne permet pas d'expliquer la prolifération d'une souche entérotoxigène commune à tous les cas. Enfin, il ne recherche ni le toxinotype ni la propriété de produire de l'entérotoxine parmi les souches isolées.

Volailles

Chez le poulet de chair de 2 à 6 semaines, Parish, dès 1961, décrit une entérite nécrotique qui entreprend essentiellement l'intestin grêle et dont les lésions sont proches de celles décrites pour l'entérite nécrotique du porcelet due à *C. perfringens* type B et C (toxine bêta). Il isole d'ailleurs des souches de ces deux toxinotypes chez des animaux atteints et reproduit la maladie chez le poulet.

Nairn et Bamford, en 1967, décrivent la même affection et isolent une souche de *C. perfringens* qu'ils ne parviennent pas à typer. Depuis ce rapport, la plupart des auteurs incriminent dans ce syndrome *C. perfringens* type A plutôt que C. L'intervention de *C. perfringens* type A dans ce syndrome est soupçonnée dès 1973 par Long dans sa revue de la littérature et est confortée par Bernier et al. en 1974 (Bernier et al., 1974b). Ces deux équipes décrivent

les lésions et tentent d'en ébaucher la pathogénie (Long et al., 1974, Bernier et al., 1974a). En 1986 et 1987, Broussard et al. et Wobeser et Rainnie décrivent un syndrome similaire chez des oies sauvages et des poulets de chair mais ne typent pas les souches de *C. perfringens* isolées.

Dès 1961, avec Parish, on tente de reproduire l'affection par des inoculations de *C. perfringens*. Seul Shane et al. en 1985 reproduit une maladie caractérisée par une entérite nécrotique en administrant une culture de *C. perfringens* type C en association avec une inoculation d'*Eimeria acervulina*. Les autres utilisent tous une souche de type A et administrent par voie orale une culture, seule (George et al., 1982) ou mélangée avec de l'aliment (Long et Truscott, 1976, Cowen et al., 1987), mais le meilleur modèle expérimental est obtenu en 1976 (Al-Sheikhly et Truscott, 1977a) par une administration intraduodénale de corps bactériens en suspension dans du bouillon de culture frais. Les mêmes auteurs dénoncent l'importance de la toxine alpha en montrant qu'une neutralisation de la toxine thêta par de la lécithine ne modifie pas le tableau clinique mais que de l'anti-toxine qui neutralise à la fois les toxines alpha et thêta préserve de la mort (Al-Sheikhly et Truscott, 1977b). Ils apportent la confirmation définitive en reproduisant des lésions avec des toxines semipurifiées, débarrassées des corps bactériens. Enfin, Fukata et al. en 1988, reproduisent des lésions similaires chez des poussins axéniques de 2 jours à la fois avec du surnageant de culture ou de la toxine alpha purifiée et neutralise cet effet par des anti-toxines produites contre la toxine alpha.

Enfin, plus récemment, *C. perfringens* type A est suspecté comme un des facteurs de cholehépatite fibrosante chez le poulet et Onderka et al. (1990) reproduisent ces lésions par injection de *C. perfringens* dans le canal biliaire.

En fait, *C. perfringens* type A est retrouvé normalement en faible nombre dans le tube digestif des volailles (10^2 à 10^4 CFU/g) (Smith et Crabb, 1961, Timms 1968, Barnes et

al., 1972) et, dans certaines circonstances (stase intestinale, microlésions de l'intestin,...), ces bactéries pullulent et produisent de la toxine alpha en grande quantité, toxine qui est responsable de l'essentiel des lésions. L'utilisation d'antibiotiques actifs sur *C. perfringens* (pénicilline, bacitracine, thiopentin, chloramphénicol) diminue le nombre de ces bactéries dans l'intestin, arrête les mortalités et améliore le gain de poids (Long et Truscott, 1976, Stutz et al., 1983, Stutz et Lawton, 1984).

2. *C. perfringens* producteur de toxine bêta (toxinotypes B et C)

Le type B de *C. perfringens* a été regroupé avec le toxinotype C car, à la fois *in vitro* et *in vivo*, il apparaît que la toxine produite le plus abondamment est la toxine bêta et que les lésions constatées lors d'épisodes pathologiques se rapprochent fortement de ceux produits par cette toxine; tout en reconnaissant que la toxine epsilon peut être un facteur adjuvant important aggravant l'affection.

La toxine bêta est rapidement inactivée par la trypsine dans l'intestin (Sakurai et Duncan, 1978) et ne peut dès lors provoquer de nécrose que dans certaines circonstances (Niilo 1965). Cette inactivation rapide par les protéases digestives, allée à l'existence de souches faiblement productrices *in vitro*, peut venir contrecarrer un diagnostic correct et faire suspecter, à tort *C. perfringens* type A comme responsable de la maladie.

L'affection atteint surtout les jeunes animaux dans leurs premiers jours de vie et des explications quant à cette âge de prédilection seront apportées dans les paragraphes suivants. Chez les animaux adultes, elle est plutôt sporadique et est souvent provoquée par un passage brutal d'une ration pauvre en protéines à une autre plus riche en celles-ci; les rations contenant, de plus, des inhibiteurs des protéases digestives (soja, luzerne,...) risquent d'aggraver la situation (Lawrence et Walker, 1976). La toxine bêta a une action paralysante sur la motricité intestinale qui pourrait interférer avec le

déclenchement de l'affection (Parnas 1976).

Certaines pathologies liées à ce toxinotype n'ayant été décrites que dans certaines régions du monde, nous essayerons de faire référence à la localisation géographique des cas rapportés dans ce chapitre.

Espèce porcine

Chez le porc, un syndrome digestif provoqué par *C. perfringens* type C est décrit dès 1955 en Grande-Bretagne (Field et Gibson, 1955), 1955 et 1956 en Hongrie, 1964 aux USA (Barnes et Moon, 1964), 1965 au Danemark (Hogh 1969b), 1977 en Allemagne de l'Est (Kohler 1978), 1981 au Canada (Morin et al., 1981) et 1983 en France. La maladie, une fois installée dans un élevage, atteint un grand nombre de porcelets par nichée. Les animaux les plus jeunes (moins d'une semaine) sont les plus sensibles et développent une entérite nécrotique hémorragique fatale. Les animaux plus âgés (jusqu'à 2-4 semaines) développent une entérite fibrineuse accompagnée d'une symptomatologie moins grave et certains animaux en réchappent (Field et Gibson, 1955, Barnes et Moon, 1964, Hogh 1967, Kohler 1978, Morin et al., 1981, Vaissaire et al., 1983, Hoefling 1989). Les lésions se développent surtout dans l'intestin grêle avec une préférence pour le jéjunum (Smith et Jones, 1963, Hogh 1969a, Moon et Dillman, 1972, Morin et al., 1981, Vaissaire et al., 1983) mais également dans le gros intestin (Moon et Dillman, 1972). Le diagnostic différentiel peut être confirmé par l'observation d'une augmentation du nombre de *C. perfringens* dans l'intestin (Smith et Jones, 1963) avec une forte proportion de *C. perfringens* type C (Field et Gibson, 1955, Hogh 1969b, Kohler 1978, Vaissaire et al., 1983); de nombreux bâtonnets Gram positifs sont intimement liés aux villosités intestinales (Field et Gibson, 1955, Hogh 1969a, Moon et Dillman, 1972); de la toxine bêta est retrouvée dans le contenu intestinal (Hogh 1969b, Morin et al., 1981) ou l'exsudat péritonéal et pleural

(Barnes et Moon, 1964, Hogh 1969b).

L'administration précoce (au moment de la naissance) d'anti-toxine bêta par voie intraveineuse, intrapéritonéale ou sous-cutanée protège la majorité des porcelets (Bergeland 1972, Vaissaire et al., 1983) de même qu'une vaccination des truies gestantes par deux injections l'une au début de la gestation (moment de la saillie à 6 semaines avant la mise-bas), l'autre 2 à 3 semaines avant la mise-bas (Bergeland 1972, Morin et al., 1981, Vaissaire et al., 1983, Hoefling 1989) d'anatoxine bêta protège les porcelets par l'intermédiaire du colostrum immun. Un vaccin constitué d'anatoxine bêta purifiée seule (Kennedy et al., 1977c, Matishek et MacGinley, 1986) ou associée à d'autres valences (Matishek et al., 1986, Ostle et Welter, 1987) ou composé d'anaculture de plusieurs toxinotypes de *C. perfringens* (dont *C. perfringens* type C) (Ripley 1983) est susceptible de procurer une immunité passive aux porcelets (Kennedy et al., 1977c, Ripley 1983, Matishek et MacGinley, 1986) et de protéger ceux-ci d'une administration intraveineuse de toxine bêta purifiée. L'administration d'antibiotiques (pénicilline, bacitracine, virginiamycine) diminue la population de *C. perfringens* et atténue légèrement l'incidence de la maladie dans les élevages atteints (Morin et al., 1981, Hoefling 1989).

Plusieurs facteurs prédisposants sont identifiés pour tenter d'expliquer l'apparition de cette affection chez le porcelet: un déficit de sécrétion pancréatique de trypsinogène dans les premiers jours de la vie (Griner 1963, Niilo 1986a), la présence d'un facteur antitrypsique en plus grande quantité dans le colostrum de truie que dans celui des autres espèces (Laskowski et al., 1957, Griner 1963, Smith et Jones, 1963, Bergeland 1972, Niilo 1986a), un pH gastrique haut dans les premières heures de la vie (Smith et Jones, 1963, Bergeland 1972) ainsi qu'une diminution de la motilité de l'intestin (Bergeland 1972) ou une irritation de la muqueuse (Bergeland 1972).

Une confirmation de l'agent et de la/des toxine(s) responsable(s) des lésions, de même qu'un schéma d'explication de la pathogenèse et une confirmation des facteurs favorisants ont été réalisés par de nombreuses reproductions expérimentales de la maladie.

La reproduction de la maladie a été obtenue dès 1959 par Field et Goodwin par l'administration *per os* d'une culture totale ou d'un surnageant de culture de *C. perfringens* type C (mais présence de *C. perfringens* type C retrouvé dans l'intestin des animaux du second groupe). En 1972, Arbuckle et Bergeland respectivement et, en 1979 Kohler et al. rapportent la reproduction de l'affection par l'administration de cultures totales *per os*. Ils étudient les lésions microscopiques et proposent des pistes concernant les facteurs déclenchants. Ils ébauchent une explication pour les lésions observées. Habola en 1988, reproduit la maladie avec une culture totale mais aussi avec du surnageant de culture de *C. perfringens* type C et décrit les lésions microscopiques observées. Mais c'est Johannsen et al. (Johannsen et al., 1986a, 1986b et 1986c), en 1986, qui reproduisent le mieux les lésions par une administration intragastrique d'une culture complète d'une souche de *C. perfringens* type C isolée d'un cas d'entérite nécrotique du porcelet. Ils parviennent à reproduire la maladie chez 29 % des animaux inoculés et constatent par examen microscopique et ultramicroscopique des lésions de l'épithélium intestinal, du système vasculaire terminal des villosités, un certain leucotactisme intestinal et peu de lésions dans les autres organes. Ils ébauchent le développement de l'affection: celle-ci débute par une multiplication de *C. perfringens* type C dans la lumière, une destruction de l'épithélium et des vaisseaux terminaux, une pénétration par les bactéries de l'épithélium endommagé, une adhésion et multiplication sur la membrane basale de l'épithélium et finalement une nécrose de coagulation du stroma de la villosité. Il n'observe pas vraiment de septicémie mais une véritable entérotoxémie.

En plus de ce syndrome bien connu, Meszaros et al., en 1967, impliquent *C. perfringens* type C dans une gastroentérite hémorragique du porc juste après le sevrage mais la même année Hogh (1967) au Danemark ne parvient qu'à isoler des *C. perfringens* de type A dans ces mêmes syndromes chez des porcelets plus âgés. Ces rapports doivent être confrontés à la découverte récente d'un syndrome lié à l'entérotoxine chez le porc au moment du sevrage (cfr chapitre 5).

Espèce bovine

Chez le bovin, de nombreuses revues de la littérature mentionnent des cas d'entérite hémorragique provoqués par *C. perfringens* type B et C (Montgomerie 1961, English 1966, Vance 1967a, Hogle 1975, Niilo 1980, Bailleul 1982, Fleming 1985). Cependant elles ne font état que de quelques publications seulement comme références.

Le premier auteur, Hepple, en 1952 en Grande-Bretagne rapporte la mort de cinq veaux (7 à 10 jours) dans une ferme ayant auparavant connu des épisodes de «lamb dysentery» (due à *C. perfringens* type B) et met en évidence les toxines bêta et epsilon de *C. perfringens* dans le filtrat obtenu à partir du contenu intestinal et isole une souche de *C. perfringens* type B. Les lésions observées sont essentiellement une nécrose de la muqueuse de l'iléon ainsi qu'une hypertrophie et des hémorragies des ganglions mésentériques. L'administration de sérum antitoxine bêta aux animaux malades, si elle a pu être effectuée assez tôt, permet de les récupérer. Macrae et Murray, en 1943, avaient décrit une même affection, mais n'avaient pu isoler que *C. perfringens* type A. En 1953, Griner et Bracken rapportent une affection fort semblable aux USA chez des veaux de 2 à 10 jours élevés par des vaches fortes productrices de lait et isolent *C. perfringens* type C. Ils parviennent à reproduire la maladie chez un veau sur 6 (2 à 3 jours d'âge) par une administration *per os* de culture totale de *C. perfringens* type C mélangée à du lait et de la farine de maïs. En 1956, Franck,

aux USA, rapporte la mort d'un veau de 3 jours dans des conditions similaires et met en évidence les toxines bêta et epsilon dans l'intestin mais ne peut isoler de souche toxigène. Enfin, Niilo (1974 et 1987) mentionne cette affection au Canada, détecte la toxine bêta et isole *C. perfringens* type C à partir de l'intestin des veaux atteints.

Lozano et al., aux USA, en 1970 constatent une augmentation du nombre de *C. perfringens* dans les selles d'animaux diarrhéiques et isole 80 % de *C. perfringens* type C. Cependant, Vance (Vance 1967b) en 1967, sur des animaux sains et Niilo et Avery, en 1963, sur des animaux soumis à l'autopsie (dont 40 % de morts subites) ne réussissent pas à isoler de souches de type B ou C au Canada. Ce dernier auteur (Niilo 1974) quand il étudie deux foyers d'entérite nécrotique, ne détecte qu'une souche de *C. perfringens* type C sur 90 étudiées à partir d'un cas. Excepté Griner et Bracken en 1953, seuls Lozano et al. de nouveau, parviennent à reproduire l'affection par une administration d'une culture totale de *C. perfringens* type C *per os* avec du lait, et parfois une culture d'*E. coli*, chez une proportion des animaux inoculés. Niilo et al., en 1963, eux, échouent dans leur tentative de reproduction expérimentale par une administration intraduodénale ou intraabomasale de culture totale de type C. Une administration intraveineuse de filtrat de culture de *C. perfringens* type C provoque la mort de 3 veaux sur 5 après une courte phase de dépression et de cyanose terminale. Ils observent chez ces animaux une congestion de tout le tractus digestif et une abomasite hémorragique chez l'un d'eux.

Plusieurs auteurs rapportent une protection par des antisérum anti B en administration prophylactique (Macrae et Murray, 1943, Hogle 1975) et thérapeutique (Hepple 1952) et préconisent une vaccination de la mère (Hogle 1975) afin d'obtenir une protection colostrale précoce. L'administration des anatoxines de *C. perfringens* type C provoque une bonne séroconversion vis-à-vis de la toxine bêta après deux

injections à 4 à 6 semaines d'intervalle (Kennedy et al., 1977a et 1977a). Griner (1963) constate une séroconversion dans un troupeau non vacciné ayant subi des épisodes d'entérite nécrotique.

Espèces ovine et caprine

Les ovins sont à l'origine de la description des deux toxinotypes B et C de *C. perfringens* (Griner 1963). En 1919, Gaiger (Griner 1963) décrit un bacille, qu'il nomme «*Bacillus agni*», responsable d'une maladie de l'agneau nouveau-né appelée «*lamb dysentery*». En 1929, Mac Ewen isole dans des cas de mortalité de jeunes brebis avec lésions digestives un bacille qu'il nomme «*Bacillus paludis*» et l'implique comme responsable de la pathologie connue en Grande-Bretagne sous le nom de «*Struck*». En 1931, Wildson démontre la relation entre ces deux agents et *Clostridium welchii* (*perfringens*), connu dans les gangrènes gazeuses. Glenny et al., en 1933, décrivent *C. perfringens* (*Welchia agni*) type B comme les souches produisant les toxines bêta et epsilon et *C. perfringens* (*Welchia agni* var. *paludis*) type C comme celles ne produisant que la toxine bêta.

Le *C. perfringens* type B est donc historiquement lié à une maladie du jeune agneau, essentiellement lors de sa première semaine de vie. Peu après, cette affection est décrite dans diverses régions du monde, comme la Grèce en 1934, l'Afrique du Sud en 1935, l'URSS en 1938, la Yougoslavie en 1929 et 1940 (Katitch 1965). Cette maladie, caractérisée par une évolution aiguë ou subaiguë, allant de la mort sans symptôme apparent à une diarrhée profuse, parfois accompagnée de sang, avec abattement et faiblesse, peut causer de 7 à 41 % de mortalité (Katitch 1965). Les lésions observées sont essentiellement (Katitch 1965) une entérite nécrohémorragique de l'intestin grêle et une inflammation du colon ainsi que l'hyperthrophie et l'hyperhémie des ganglions mésentériques.

Les facteurs favorisant cette affection ressemblent à ceux décrits dans les autres espèces atteintes d'enté-

rite nécrotique à *C. perfringens* type C. D'ailleurs ce toxinotype est aussi incriminé, dès 1954, par Griner et Johnson, aux USA, dans une maladie fort semblable à celle décrite pour *C. perfringens* type B. Les agneaux nouveaux-nés (12 à 72 heures) meurent très rapidement avec peu de symptômes caractéristiques. On observe une entérite nécrohémorragique du grêle et du colon, une lymphadénite sérohémorragique des ganglions mésentériques, une caillette hyperhémique et des hémorragies du thymus et du diaphragme. Au microscope, il observe nécrose et destruction des villosités intestinales avec prolifération de *C. perfringens* dans l'intestin. En fait la maladie est essentiellement provoquée par la toxine bêta produite par les deux toxinotypes, la toxine epsilon ne pourrait que rajouter un effet systémique supplémentaire (Niilo 1986a). Cependant *C. perfringens* type B semble surtout produire de la toxine bêta dans ce type d'affection (Frank 1956). Le fait que l'administration d'antisérum anti-type B ou C protège les jeunes agneaux vient renforcer cette affirmation (Griner et Johnson, 1954, Reid 1976).

Niilo, en 1986, (Niilo 1986b) parvient à reproduire expérimentalement cette pathologie par une administration intraduodénale de *C. perfringens* type C à des agneaux plus âgés de 8-9 mois non vaccinés. Il n'obtient de maladie que lorsqu'il administre une culture totale ou des bactéries vivantes remises en suspension dans un milieu de culture neuf avec administration conjointe de farine de fèves de soja (qui contient un inhibiteur de la trypsine et de la chymotrypsine). Les symptômes et les lésions sont semblables à celles de la maladie naturelle. La toxicité du filtrat du contenu intestinal est neutralisée par de l'antisérum anti-type C. L'auteur retrouve de nombreux bâtonnets Gram positifs dans les pseudomembranes couvrant les villosités intestinales et suspecte leur attachement aux villosités comme un facteur important de la pathogénie de l'affection. L'administration intraveineuse d'un filtrat de culture de *C. perfringens* type C (Gordon et al., 1940) provoque la

mort rapide des animaux après une période de dyspnée et d'incoordination. Les lésions ne sont pas très spécifiques à savoir, outre les lésions intestinales, des pétéchies sur l'endocarde du ventricule gauche, des hémorragies sur le péritoine et la séreuse de la caillette.

Les nombreuses revues de la littérature concernant *C. perfringens* type B et C (Griner 1963, Katitch 1965, English 1966, Istamatin et Ungureanu, 1967, Niilo 1980, Sterne 1981, Niilo 1986a) mentionnent aussi une maladie atteignant des moutons adultes. La maladie nommée «Struck» semble localisée à la Grande-Bretagne et à la Roumanie (Istamatin et Ungureanu, 1967) et aucune explication convaincante concernant les facteurs déclenchants n'a encore pu être apportée à ce jour (Niilo 1986a). *C. perfringens* type B a également été incriminé dans des cas de mortalité sporadique de moutons et de chèvres adultes en Iran (Niilo 1980). La toxine epsilon pourrait avoir un rôle important dans ce syndrome et donc ce type de souche de type B être classé dans la catégorie de souches produisant essentiellement cette même toxine. Les souches de toxino-type B isolées sont différenciables des souches responsables de «lamb dysentery» par leurs antigènes mineurs (Tableau 3).

La vaccination avec des anatoxines de type B et C, en deux injections séparées de 2 à 6 semaines provoque une élévation du taux d'anticorps correspondants (Kennedy et al., 1977a). La vaccination des mères gestantes est conseillée dans les zones d'enzootie (Reid 1976). Niilo, en 1986, (Niilo 1986a) dans sa revue, reprend les facteurs favorisant ce type de pathologie et suspecte l'intervention importante de toxines mineures.

Espèce équine

Chez le poulain, dès 1937 en Grande-Bretagne (Montgomerie et Rowlands, 1937) et 1938 en Afrique du Sud (Katitch 1965), on rapporte des cas de mortalité avec des lésions d'entérite nécrotique proches de celles observées dans la «lamb dy-

sentery». Excepté deux publications (Montgomerie et Rowlands, 1937, Stubbings 1990) qui rapportent la mort de poulains de 4 semaines attribuée à *C. perfringens* type B en Grande-bretagne en 1937 et 1978, la plupart des cas rapportés par la suite, aux USA (Dickie et al., 1978, Howard et al., 1986, Pearson et al., 1986), en Australie (Sims et al., 1985) et au Canada (Niilo et Chalmers, 1982) sont très semblables dans leur tableau clinique. Les animaux atteints sont tous âgés de moins de 8 jours et l'évolution de la maladie menant à la mort est très rapide (12 heures en moyenne). Les symptômes observés sont, le plus souvent, une douleur abdominale mais aussi parfois de l'abattement accompagné d'une diarrhée hémorragique dans la phase terminale. Les lésions entreprennent essentiellement l'intestin grêle (Montgomerie et Rowlands, 1937, Dickie et al., 1978, Niilo et Chalmers, 1982, Howard et al., 1986) avec une prédominance dans sa portion postérieure (Sims et al., 1985, Pearson et al., 1986); le gros intestin est également atteint mais moins gravement (Howard et al., 1986). La séreuse est congestionnée et l'intestin est rempli d'un contenu hémorragique avec des caillots de sang. La muqueuse est hémorragique avec une nécrose de coagulation entreprenant les villosités. Celles-ci, dénudées de leur épithélium, sont couvertes de bâtonnets Gram positifs (Niilo et Chalmers, 1982, Sims et al., 1985, Howard et al., 1986, Pearson et al., 1986). Des frottis du contenu intestinal montrent une prédominance de ces mêmes bâtonnets (Montgomerie et Rowlands, 1937, Niilo et Chalmers, 1982, Sims et al., 1985, Pearson et al., 1986, Stubbings 1990) qui, en culture, se révèlent être des *C. perfringens* type C. Les auteurs qui ont isolé des souches de type B chez des animaux plus âgés décrivent à peu près le même tableau pathologique (Montgomerie et Rowlands, 1937, Stubbings 1990).

Outre la culture, la mise en évidence de la toxine bêta dans le contenu de l'intestin grêle, est le test déterminant pour plusieurs auteurs (Dickie et al., 1978, Niilo et Chalmers, 1982, Sims et al., 1985, Howard et al.,

1986, Pearson et al., 1986). Cependant l'existence de souches faiblement productrices (Sims et al., 1985) ainsi que la labilité de la toxine bêta font que plusieurs éléments doivent être rassemblés pour un bon diagnostic différentiel. La plupart des auteurs ne rapportent qu'un ou deux cas et décrivent l'affection comme plutôt sporadique dans une exploitation. Cependant Sims en Australie (Sims et al., 1985) et Pearson aux USA (Pearson et al., 1986) mentionnent plusieurs cas mortels par an dans certains élevages et des cas similaires mais d'évolution moins dramatique avec récupération apparente. Les auteurs de la seconde publication ont même préconisé une vaccination avec des anatoxines de *C. perfringens* type C et D et n'ont plus observé d'épisodes d'entérite hémorragique dans l'élevage la saison suivante.

Espèce humaine

Chez l'homme, une affection due à *C. perfringens* type C est bien connue et a été décrite en Afrique, Asie du Sud-Est, Amérique,... (Lawrence et Walker, 1976) mais tous les rapports mentionnaient des cas plutôt sporadiques et donc difficiles à étudier à de nombreux points de vue. Deux épisodes expliqués par des circonstances favorisant différentes ont été bien étudiés.

Le premier a été décrit en Allemagne et en Scandinavie juste après la seconde guerre mondiale. Les personnes atteintes (morbidity jusqu'à 16/10.000 et mortalité jusqu'à 3,5/10.000) étaient pour la majorité d'entre elles des adultes ou des vieillards souffrant de malnutrition et auxquelles des repas riches en protéines ont été servis (Murrel et al., 1966).

Le second épisode, le plus connu, se produisait régulièrement dans les îles de Papouasie Nouvelle-Guinée, dans des peuplades où la ration est très pauvre en protéines et presque exclusivement constituée de patates douces. Cependant tous les 6-7 ans, en moyenne, ont lieu des fêtes rituelles lors desquelles de nombreux porcs sont abattus et consommés par la population. C'est surtout suite

à ces fêtes que les cas apparaissent. Les jeunes en dessous de 9 ans sont les plus atteints (58 % des cas rapportés) (Lawrence et Walker, 1976).

Les lésions dans les deux cas sont fort proches de celles décrites chez les jeunes animaux (Walker et al., 1980). *C. perfringens* type C est retrouvé en grand nombre chez les individus atteints mais en faible proportion en dehors des périodes d'épidémie. Les individus vivant dans les zones où l'affection sévit développent une immunité humorale spécifique contre la toxine bêta. Le développement de l'affection en Papouasie Nouvelle-Guinée est expliqué par: (i) le régime habituel pauvre en protéine qui diminue la production de protéases digestives, (ii) l'agent antitrypsique thermostable contenu dans les patates douces, (iii) peut-être aussi par l'antitrypsine sécrétée par le vers rond *Ascaris lumbricoides* présent chez 90 à 100 % des hommes de cette région (Wellcome 1980). Lors d'un afflux de protéines, ces facteurs font que la toxine bêta, normalement détruite, peut exercer son action néfaste sur l'intestin et déclencher la maladie. Le fait qu'une immunisation active par un vaccin anti-*C. perfringens* type C protège du syndrome vient renforcer cette hypothèse (Wellcome 1980) de même que les essais de reproduction expérimentale chez le porc (Walker et al., 1980) ou le cobaye (Lawrence et Cooke, 1980). La mise en évidence d'une entérotoxine (la même que celle impliquée dans les intoxications alimentaires à *C. perfringens* type A chez l'homme) ne peut qu'accentuer la gravité de l'affection (Skjelkvale et Duncan, 1975, Uemura et Skjelkvale, 1976, Stelma et al., 1985). De plus, on a récemment attribué un syndrome d'entérite nécrotique de ce type à *C. perfringens* type A (Van Kessel et al., 1985).

Volailles

Des souches de *C. perfringens* type B et C ont aussi été incriminées dans des phénomènes d'entérite nécrotique fort semblables à ceux attribués à *C. perfringens* type A. C'est

pourquoi ils ont été repris dans le chapitre précédent.

3. *C. perfringens* producteur de toxine epsilon (toxintype D)

Ce toxintype a été le plus étudié et les pathologies y associées les mieux décrites (Sterne 1981, Niilo 1980, Niilo 1986a). La toxine epsilon, dans ce cas, est pour la plupart des auteurs, le facteur essentiel, si pas le seul, responsable de l'affection. La bactérie présente dans l'intestin se met à proliférer sous certaines conditions, notamment lorsque de l'amidon non digéré se retrouve dans l'intestin (Bullen 1970). Les *C. perfringens* de type D, pour des raisons inexplicables, viennent supplanter ceux de type A et produisent en grande quantité de la toxine epsilon qui est rapidement activée par la trypsine et devient pleinement active.

Cette toxine, à l'inverse de la toxine bêta, n'exerce pas une action toxique importante sur la paroi de l'intestin, si ce n'est une augmentation de la perméabilité de la muqueuse quand elle est en forte concentration (Bullen et Batty, 1956 et 1957b). Elle se retrouve donc rapidement dans la circulation sanguine et peut aller se fixer sur des récepteurs, essentiellement sur l'endothélium vasculaire, surtout dans le cerveau ainsi que sur les cellules des anses de Henlé et des sinusoides hépatiques. Les cellules endothéliales touchées ne permettent plus les échanges liquidiens normaux avec pour conséquence notamment un oedème cérébral suivi de dégénérescence et de nécrose (Buxton et Morgan 1976).

L'hyperglycémie et la glucosurie, caractéristiques pathognomoniques de l'affection chez les petits ruminants est due à une glycogénolyse des réserves de glycogène hépatique (Gardner 1973). Le phénomène a été expliqué par plusieurs auteurs (Buxton 1978, Worthington et al., 1979) mais l'intervention d'une décharge de catécholamines suite à l'oedème cérébral semble en être à l'origine (Niilo 1986). La glycosurie est de plus, facilitée par les dom-

mages aux tubules rénaux. La diminution de consistance du rein (rein pulpeux) semble résulter d'une autolyse rapide.

Espèce bovine

Contrairement aux petits ruminants, *C. perfringens* type D ne semble pas fortement impliqué dans les cas d'entérotoxémie chez le bovin; la littérature les mentionne comme rares (Niilo et Avery, 1963, Vance 1967a, Niilo 1980, Espinasse 1980). *C. perfringens* type D peut cependant être isolé, ou la toxine epsilon détectée, à partir de l'intestin d'animaux sains (Vance 1967b, Niilo 1980), souffrant de diarrhée (Yalcin et al., 1969, Ramisse et al., 1979) ou d'autres pathologies (Niilo et Avery, 1963). Taylor et Stewart (1941) signalent l'isolement d'une souche de l'intestin d'une vache en bonne santé.

En 1954, Keast, en Australie rapporte la mort d'une vache adulte associée à une pullulation de *C. perfringens* dans l'intestin ainsi que la mise en évidence de toxine epsilon dans le contenu (Keast et Macbarrow, 1954). En 1956, Griner (Griner et al., 1956) aux USA, rapportent la mort de 3 veaux entre 7 et 10 semaines, nourris de luzerne, de «calf starter» et de lait écrémé. L'évolution de la maladie a été rapide (3 à 36 heures) sans symptôme caractéristique et sans diarrhée. A l'autopsie, seule une légère entérite catharrale et des ganglions mésentériques sérohémodorragiques sont à noter. Le contenu de l'intestin grêle contient beaucoup de *C. perfringens* et la toxicité du filtrat du contenu intestinal est neutralisée par un sérum anti *C. perfringens* type B et D seulement. En 1957, Blood et Helwing, de nouveau en Australie décrivent un cas d'entérotoxémie touchant un veau de 3 mois avec des symptômes nerveux précédant la mort. A l'ouverture du cadavre, il ne constate pas de gastroentérite mais le contenu de l'intestin a un effet toxique pour la souris neutralisable par un sérum anti-type D. Mumford, en 1961, dans des cas semblables relève l'absence de diminution de la consistance du rein, caractéristique de l'action de la toxine epsilon chez

le mouton, et ne peut mettre en évidence de glucosurie. Niilo et Avery, au Canada, en 1963, isolent une souche de *C. perfringens* type D d'un cas d'entérotoxémie bovine mais ne retrouve que 3 souches de type D parmi 278 d'origine bovine isolées à partir de cas pathologiques divers. Enfin, Hogle (1975), aux USA, suspecte, par analogie avec la maladie ovine, une affection chez les bovins exploités en «feedlot» et nourris essentiellement au grain. Cependant il ne s'appuie sur aucune donnée bactériologique si ce n'est une diminution des cas enregistrés après vaccination avec des anatoxines de *C. perfringens* type D (Vance 1967a).

Le fait que plusieurs auteurs, en Nouvelle-Zélande (Thompson et Liardet, 1966), USA (Kennedy et al., 1977a) et Grande-Bretagne (Clarkson et al., 1985) montrent que les bovins ne semblent pas développer d'immunité naturelle vis-à-vis de la toxine epsilon, contrairement aux ovins, semble également indiquer une faible prévalence de cette bactérie chez le bovin. Katitch, dans sa revue de 1965, attribue les rares cas d'isolement de *C. perfringens* type D chez le bovin à leur cohabitation avec des petits ruminants.

Des lésions de l'encéphale de jeunes bovins, proches de celles constatées dans les cas de «reins pulpeux» chez les moutons, ont aussi été attribués à *C. perfringens* type D mais ni l'agent, ni la toxine principale n'ont été mis en évidence chez ces animaux (Buxton et al., 1981).

Si les cas naturels semblent rares, Niilo et al., en 1963, parviennent à reproduire une maladie fort semblable à celle observée chez le mouton par administration intraduodénale de culture complète de *C. perfringens* type D additionnée de dextrine. Deux animaux sur 8 (170 à 280 Kgs) déclarent une maladie dans les deux heures et meurent dans les 6-8 heures avec des signes nerveux. A l'autopsie, on retrouve des liquides rosés dans les cavités thoracique et abdominale, de l'oedème pulmonaire et des lésions microscopiques du rein, à savoir des hémorragies en surface et une destruction des tubules rénaux mais sans diminution de la consistance de

l'organe. Ils mentionnent de la glycosurie et les lésions au niveau de l'intestin se limitent à des pétéchies sur la séreuse. Il retrouve beaucoup de *C. perfringens* et de la toxine epsilon dans l'intestin. Une administration intraveineuse de surnageant de culture de *C. perfringens* type D tue 5 animaux sur 5 en moins d'une heure avec les mêmes lésions.

Si l'importance réelle de la maladie n'est pas déterminée, une très bonne séroconversion suite à la vaccination a été démontrée par plusieurs auteurs (Thompson et Liardet, 1966, Kennedy et al., 1977a, Clarkson et al., 1985) avec un intervalle optimal de 6 semaines entre les deux injections.

Espèces ovine et caprine

C'est, historiquement, chez le mouton qu'a été décrit le type D de *C. perfringens* (Griner 1963). En 1931, un grand nombre de moutons périrent de ce que Bennets (1932), en Australie, appela l'entérotoxémie infectieuse et Gill (1934), en Nouvelle-Zélande, nomma la maladie du rein pulpeux (pulpy kidney disease). Ces deux auteurs isolèrent un bacille qu'ils baptisèrent «*Bacillus ovitoxicus*». Par la suite, celui-ci fut rapproché des autres toxinotypes par la mise en évidence de la toxine epsilon, produite également par le type B.

Déjà en 1932, Bennets avait compris l'essentiel de la pathologie et ouvert la voie au développement de la prophylaxie médicale (Bullen et Batty, 1957a).

C. perfringens type D est retrouvé dans le sol des exploitations ovines (Edgar, 1938, Taylor et Stewart, 1941), comme dans le tube digestif d'ovins en bonne santé (Bennets 1932, Taylor et Stewart, 1941). Bullen détecte la présence de toxine epsilon dans le tube digestif de 46 moutons sur 100 à l'abattoir (Bullen 1952) et isole des souches de *C. perfringens* type D de certains échantillons. Cette présence de la bactérie et de la toxine dans l'intestin d'animaux sains, se traduit en une séroconversion naturelle très répandue chez le mouton (Baldwin et al.,

1948, Bullen et Scarisbrick, 1953, Smith et Marsh, 1953, Bullen et Batty, 1957b, Thompson et Batty, 1958) comme chez la chèvre (Blackwell et al., 1983). Le développement de cette immunité naturelle, n'empêche pas les fortes pertes (de 1 à 30 %) dues à cette affection dans les troupeaux ovins ou caprins (Chakrabarty et al., 1980) non immunisés artificiellement (Bennets 1932, Heat 1955, Bullen et Batty, 1957a).

De nombreuses revues ont été consacrées à cette pathologie ovine (Edgar 1938, Harshfield et al., 1942, Bullen et Batty, 1957a, Stevens 1959, Katitch 1965, Bullen 1970, Niilo 1980, Niilo 1986a) qui semble répandue dans le monde entier (Gay et al., 1975).

La maladie semble toucher les moutons de tout âge, excepté les nouveau-nés. La mort est rapide (2 à 4 heures en général) et n'est précédée que d'une courte phase de dépression ou de troubles nerveux. Les lésions macroscopiques se limitent, en général, à la présence d'un exsudat péricardique, une légère congestion du tube digestif dilaté par du gaz et l'état pulpeux des reins si l'autopsie n'a pas été effectuée directement après la mort. L'encéphalomalacie focale symétrique a été rapportée par de nombreux auteurs (Hartley 1956, Griner 1961, Griner et Carlson, 1961, Gay et al., 1975, Buxton et al., 1978). L'analyse sanguine révèle essentiellement de l'hémoconcentration, de l'acidose et de l'hyperglycémie (Gordon et al., 1940, Gardner 1973a, Popoff 1979). La glucosurie est caractéristique et permet d'exclure la mort due à une acidose lactique suite à une suralimentation (Bullen et Scarisbrick, 1957, Bullen 1970, Popoff 1979).

Les causes prédisposantes sont essentiellement d'ordre alimentaire. Les nombreux cas décrits en 1931 en Australie et Nouvelle-Zélande semblent pouvoir être attribués à un passage à des pâturages exceptionnellement riches (Bullen 1970). La plupart du temps les animaux atteints étaient les meilleurs consommateurs d'un régime riche (Chakrabarty et al., 1980) ou venaient de subir un brusque changement de régime alimentaire. La flore rumé-

nale n'ayant pas eu le temps de s'adapter à cet afflux de nutriments, ceux-ci pénètrent non digérés dans l'intestin où ils servent de substrat à la croissance rapide de *C. perfringens* type D. Bullen (Bullen et Scarisbrick, 1957) corrèle la présence de grains d'amidon non digérés dans l'intestin et le développement de l'affection.

Le diagnostic doit être confirmé par plusieurs éléments; outre l'anamnèse rapportée et les lésions observées, la glucosurie semble déterminante (Bullen 1970, Popoff 1979). La présence de toxine epsilon dans l'intestin, si elle n'est pas une preuve à elle seule, vient renforcer le diagnostic, de même que l'isolement de *C. perfringens* type D en grand nombre dans l'intestin (Buxton et al., 1978). Le diagnostic histologique, notamment par une étude des lésions cérébrales (oedème périvasculaire, hémorragies et dégénérescence focale) (Buxton et al., 1978) ou hépatiques (élargissement des sinusoides hépatiques) (Gordon et al., 1940) est préconisé par plusieurs auteurs.

Enfin, dès 1932, Bennets préconise la vaccination à l'aide d'anaculture formolée de *C. perfringens* type D pour protéger de la maladie. De nombreux vaccins sont testés ultérieurement. Thompson et Batty, en 1958, sélectionnent l'antigène constitué par la toxine activée par la trypsine, transformée en anatoxine et précipitée à l'alun comme celui donnant les meilleurs résultats et Hepple, en 1959, décrit l'efficacité d'un vaccin composé d'anatoxine et d'hydroxide d'aluminium (Jansen 1967). Un grand nombre de publications décrivent des vaccins mono- (Baldwin et al., 1948, Thomson et Batty, 1958, Jansen 1967), bi- (Kennedy et al., 1977a) ou, le plus souvent, multivalents (Batty et al., 1954, Sterne et al., 1962, Frerichs et Gray, 1975, Kerry 1979, Cameron 1980, Webster et Frank, 1985, Katitch et al., 1988). Janssen, en 1967, détermine la dose et l'écart optimal entre les deux injections (Jansen 1967). L'immunité passive acquise par le biais du colostrum de la brebis immune (Oxer et al., 1971) ou par administration d'antisérum de cheval

(Odendaal et al., 1988) protège les agneaux pendant 3 à 4 semaines (Bullen 1970) et ne semble pas interférer avec le développement de l'immunité active suite à une première injection précoce de vaccin (Batty et al., 1954, Oxer et al., 1971). L'administration d'un vaccin multivalent en 2 injections à 4-6 semaines d'intervalle semble la meilleure solution et procure une protection totale contre les inoculations expérimentales (Bullen 1970). L'administration d'une injection unique, du moins chez des agneaux nouveau-nés, semble tout-à-fait insuffisante (Smith et Marsh, 1953).

Une bonne estimation de la protection conférée par une vaccination peut être obtenue par l'étude du taux d'anticorps anti-toxine epsilon. Thomson et Batty, en 1958, estiment qu'un taux supérieur à 0,1 Unité d'antitoxine est suffisant. Les caprins semblent moins bien répondre à la vaccination et nécessiteraient 3 à 4 injections par an pour atteindre le même taux de protection (Blackwell et al., 1983).

Dès 1932, Bennets décrit la reproduction de la maladie par une administration orale de culture totale de *C. perfringens* type D accompagnée de belladone ou d'opium pour ralentir la motilité intestinale et donc l'élimination de la toxine produite. L'administration de culture seule ne provoque pas de troubles. Ensuite plusieurs auteurs tentent de reproduire l'affection par une administration conjointe de culture et de lait ou de grains, avec plus ou moins de succès (Harshfield et al., 1942, Bullen et Batty, 1957a). Bullen et Scarisbrick (1953 et 1957), par une série d'expériences sur des animaux avec canules du rumen, du duodénum et de l'iléon déterminent le comportement des *C. perfringens* type D inoculés dans les divers compartiments digestifs: 90 % des bactéries sont détruites dans le rumen mais les rescapées se multiplient abondamment dans l'intestin grêle en produisant de grandes quantités de toxines mais les bactéries disparaissent rapidement de l'intestin par la suite. Cette abondante production de toxines n'est pas suffisante pour provoquer des

symptômes. Pour ce faire, il est nécessaire d'associer l'administration préliminaire d'un repas riche en éléments nutritifs (froment, orge, luzerne) à l'inoculation. Les auteurs constatent alors un plus grand nombre encore de *C. perfringens* type D dans l'intestin et une quantité beaucoup plus importante de toxine epsilon pendant un laps de temps assez long; dans ces conditions des animaux meurent. D'autre part, ils n'observent qu'une légère diarrhée après une administration continue de toxine dans l'intestin. Ils estiment donc que, pour que la maladie se déclenche, chez des animaux non immuns, il faut une très forte quantité de toxine dans l'intestin pendant une période assez longue. Ils mettent en corrélation la présence de granules d'amidon non digérées dans l'intestin et le développement de l'affection. Par la suite, c'est Janssen, en 1967, qui décrit le modèle universellement utilisé par la suite, qui consiste en une administration simultanée par voie intraduodénale d'une culture complète de *C. perfringens* type D et d'amidon ou dextrine. Par après cette technique a été utilisée avec succès (Gardner 1973a, Dholakia et al., 1981) et a permis de mieux étudier la pathogénie (Gardner 1973a, 1973b et 1973c).

Enfin, Gordon et al., en 1940 et Gardner (1973a et 1973b) étudient les symptômes et les lésions consécutifs à une administration intraveineuse de culture ou de toxine purifiée et constatent les mêmes caractéristiques de la maladie, naturelle ou expérimentale.

Espèce équine

Deux cas où *C. perfringens* type D est impliqué chez le cheval ont été rapportés. Carroll et al., en 1987, décrivent un épisode de mortalité dans un élevage parmi des juments adultes. Les animaux étaient nourris exclusivement de concentrés énergétiques pendant une période de sécheresse et la mort de plusieurs juments suite est constatée. Dans l'intestin de l'une d'elles, on retrouva *C. perfringens* en grand nombre et le filtrat de l'intestin,

toxique pour la souris, ne fut neutralisé que par un sérum anti-*C. perfringens* type D. Stubbings, aux USA, en 1990, rapporte la mort d'un poulain de 6 mois richement nourri en vue d'un concours et dont la maladie évolua vers une issue fatale en quelques heures. A l'autopsie, il avait constaté des pétéchies sur le cœur, une dégénérescence du rein et la dilatation du tube digestif, rempli d'aliments. Des bâtonnets ressemblant à *C. perfringens* se trouvaient en grand nombre dans l'intestin et la toxine epsilon a été mise en évidence dans le contenu.

Espèce humaine

Katitch, dans sa revue de 1965, mentionne plusieurs références datant de 1955 où *C. perfringens* type D a été isolé de cadavres d'hommes morts d'une entérotaxémie aiguë.

Autres espèces

L'intervention de *C. perfringens* type D dans des cas d'entérotaxémie chez les cervidés (English 1985) a été démontrée, de même que l'efficacité d'une vaccination, même si la réponse vaccinale semble plus réduite que chez le mouton (Griffin 1987).

Des cas de mortalité chez le chinchilla, attribuées à *C. perfringens* type D ont été décrits par Moore et Greenlee, en 1975, qui détectent de la toxine epsilon dans l'intestin des animaux morts et arrêtent la mortalité par une vaccination contre les toxines de *C. perfringens* type D.

4. *C. perfringens* producteur de toxine iota (toxinotype E)

Si la plupart des auteurs mentionnent *C. perfringens* type E comme un pathogène possible (Prévot et al., 1967, Vance 1967a, Niilo 1980, Niilo 1986a), bien peu de références sont citées pour appuyer cette affirmation (Montgomerie 1961, Sterne et Batty 1975).

Bosworth, en 1943, en Grande-Bretagne, décrit des souches productrices d'une toxine létale inconnue jusqu'alors, à partir de l'intestin de

veaux morts d'entérotaxémie. Il reproduit l'affection chez un veau de 4 jours par l'administration d'un bouillon de culture. L'animal inoculé meurt en 12 heures après à une phase d'abattement, de coma et de collapsus. A l'autopsie, il constate une entérite aiguë et des hémorragies sur les séreuses. Les souches qu'il isole ne rentrent dans aucune des classes définies par Wildson, en 1931; il les classe donc dans un nouveau toxinotype, *C. perfringens* type E. Les seuls autres cas pathologiques associés à l'isolement de *C. perfringens* type E sont (i) un cas de mort d'origine non mentionnée chez un agneau, en 1944, en Grande-Bretagne (Ross et al., 1949), (ii) deux cas de mort non due à un syndrome digestif avec cependant isolement de deux souches de *C. perfringens* type E, en 1963, au Canada (Niilo et Avery, 1963), (iii) des cas de morts en série, en 1966, en Australie (Hart et Hooper, 1967), de veaux de moins de deux semaines (majorité entre 7 et 10 jours) avec entérite nécrohéorragique, gastrite avec de nombreux petits ulcères, congestion des vaisseaux du mésentère et hypertrophie des ganglions mésentériques; pas de glucosurie et présence dans le contenu intestinal d'une toxine létale pour la souris mais non identifiée. Il isole 2 souches de *C. perfringens* type E en culture pure du rein de deux animaux sacrifiés en phase terminale de la maladie mais n'identifie que *C. perfringens* type A, en grand nombre, dans l'intestin. Ross et al., en Grande-Bretagne, isolent également sept souches à partir de prélèvements de surface de la mamelle de brebis, sans les associer à une quelconque maladie (Ross et al., 1949).

Aucune publication ne signale de reproduction expérimentale, excepté celle de Bosworth, en 1943. Seules des études sur l'action de la toxine ont été entreprises. Elle est dermonécrotique sur la peau de cobaye, létale par voie parentérale chez la souris, augmente la perméabilité capillaire de la peau de lapin (Craig et Miles, 1961) et exerce une action cytotoxique sur les cultures de cellules Y1 (Y1mouse adrenal cells culture) (Rehg et Pakes, 1982). Cette toxine, dénommée iota, est

constituée de deux sousunités (Stiles et Wilkins, 1986) dont l'unité légère est la partie active (Simpson et al., 1987). Elle peut être activée par la trypsine (Ross et al., 1949, Craig et Miles, 1961). On lui a récemment reconnu une activité ADP-ribosylase (Simpson 1987).

De nombreuses publications soupçonnent *C. perfringens* type E d'être responsable de diarrhée mortelle chez le lapin, suite à des changements ou déséquilibres alimentaires ou des traitements par des antibiotiques (Rehg et Pakes, 1982). Cependant aucun de ces auteurs ne parvient à isoler *C. perfringens* type E, ni même de souches de *C. perfringens* en général dans certains cas. La découverte récente d'une toxine «iota-like» produite par *Clostridium spiroforme*, bactérie retrouvée fréquemment chez les lapins, semble innocenter *C. perfringens* type E dans ce syndrome (Peeters et al., 1986, Yonushonis et al., 1987, Hafar et al., 1988).

Cependant, Madden et al., en 1970, constatent la mortalité de cobayes axéniques replacés en condition d'élevage conventionnel et isolent des souches de *C. perfringens* à partir de l'intestin, du sang et des organes. Le surnageant de culture de ces isolats, après activation par la trypsine, est létal pour la souris et ne peut être neutralisé par aucun des anti-sérums Anti-type A, B ou D. Les auteurs en déduisent qu'il doit s'agir de souches de *C. perfringens* type E.

5. *C. perfringens* type A entérotaxinogène

Bien que l'entérotaxine de *C. perfringens* n'ait été caractérisée qu'au début des années septante, c'est elle qui a suscité le plus grand nombre de travaux scientifiques. Le fait qu'elle soit impliquée dans un phénomène pathologique atteignant l'homme dans le monde entier, n'y est certainement pas étranger.

Cette toxine, à l'inverse des toxines létales majeures, ne semble pas excrétée par la bactérie sous sa forme végétative mais s'accumule dans la cellule, essentiellement au moment de la sporulation, et est libérée lors

de la lyse du corps bactérien. Elle est résistante aux enzymes digestives (notamment la trypsine) (Sugii et al., 1986), est thermolabile, non nécrosante mais provoque une accumulation de liquide dans l'intestin de la plupart des espèces chez lesquelles l'expérience a été tentée (Niilo 1980). Elle ne semble pas exercer d'autre action pathologique dans les conditions naturelles.

De nombreux auteurs se sont, même avant l'identification de la toxine, intéressés aux souches de *C. perfringens* responsables d'intoxication alimentaire chez l'homme. Des études concernant la sérotypie et la résistance des spores à la chaleur (plus d'une heure à 100 °C) ont été menées (Hobbs 1965) mais ces caractères ne se sont révélés utiles que pour des études épidémiologiques car les souches isolées appartiennent à des sérotypes extrêmement variés (Hobbs et al., 1953, Collee et al., 1961, Hall et al., 1963, Stringer et al., 1980) et des souches produisant des spores thermosensibles peuvent également produire de l'entérotoxine. Des tests de bactériocinotypie ont aussi été proposés mais les résultats préliminaires ne semblent nullement corrélés avec la production d'entérotoxine (Bittner et al., 1980).

Des tests immunologiques (Willis et Phillips, 1988), génétiques (Van Damme-Jongsten et al., 1990a) ou biologiques très nombreux ont été développés pour mettre en évidence ce facteur de virulence, soit directement dans les selles, soit dans des extraits de culture où *C. perfringens* a sporulé. Les principaux tests biologiques utilisés sont: l'activité érythémateuse sur la peau de cobaye albinos (Hauschild 1970, Starck et Duncan, 1972a et 1972b, Niilo 1975, Naik et Misra, 1978), le test de létalité sur souris (après concentration) (Niilo 1975), l'accumulation de liquide dans l'anse intestinale ligaturée de lapin (Duncan et al., 1968, Duncan et Strong, 1969, MacDonel et Duncan, 1975 et 1977, Naik et Misra, 1978) ou de souris (Yamamoto et al., 1979). Récemment, on a montré que cette toxine pouvait se fixer sur les hépatocytes et les cellules Véro (Jarmund et Telle, 1982).

Chez ces dernières elle exerce un effet cytotoxique (MacLane et MacDonel, 1979 et 1980, MacLane 1984, Lindsay 1988, Mahony et al., 1989) qui est à la base d'un des tests diagnostiques les plus utilisés actuellement. Le site de fixation sur ces cellules a été étudié (Sugii et Horiguchi, 1988).

De multiples études tentent d'expliquer son activité biologique. L'entérotoxine se fixe sur la paroi de l'intestin grêle (MacDonel et al., 1978, Jarmund et Telle, 1982) et même du colon (MacDonel et Demers, 1982). On la retrouve essentiellement sur la bordure en brosse des cellules épithéliales des villosités intestinales; elle perturbe les échanges transmembranaires avec développement rapide des troubles de la production d'énergie, de l'entrée de glucose et de la synthèse des macromolécules (Wnek et MacLane, 1983 et 1986, Niilo 1986a).

Outre les recherches sur anses ligaturées, de nombreuses tentatives de production de diarrhée, dans de nombreuses espèces, ont été réalisées avec succès par administration de cultures, d'extraits de culture ou d'entérotoxine purifiée, *per os* ou par voie intraduodénale. Ces mêmes préparations ont également été injectées par voie intraveineuse à des animaux. Les symptômes et lésions constatés semblent liés à une vasodilatation généralisée avec chute de la pression sanguine pouvant mener à la mort (Niilo 1986a).

Enfin, de nombreux travaux se sont intéressés à la prévalence de ce type de souche dans l'intestin, ainsi qu'à la prévalence d'une certaine immunité naturelle spécifique vis-à-vis de ce facteur. L'entérotoxine semble être faiblement immunogène quand elle est produite ou inoculée dans l'intestin, bien qu'elle se soit montrée un très bon antigène par injection parentérale. Cela pourrait expliquer les discordances parfois constatées entre un portage important de souches entérotoxigènes et une faible séroconversion naturelle (Niilo et Bainborough, 1980, Niilo 1986a). Enfin, plusieurs auteurs constatent qu'un taux élevé d'anticorps dans le sérum (obtenu, par exemple, suite à une vaccina-

tion) ne protège pas contre les inoculations expérimentales (ce qui semble, par contre, la règle générale pour les toxines bêta et epsilon).

Il faut aussi noter, la récente implication de l'entérotoxine dans les cas d'entérite nécrotique de l'homme en Papouasie Nouvelle-Guinée provoquée par *C. perfringens* type C. Cependant les caractéristiques de l'affection font penser que, dans ce cas, l'action de la toxine bêta est primordiale (Skjelkvale et Duncan, 1975, Uemura et Skjelkvale, 1976, Stelma et al., 1985). Des souches entérotoxigènes de *C. perfringens* type D ont également été décrites.

Espèce humaine

C'est chez l'homme, qu'a été signalée la première pathologie vraisemblablement liée à *C. perfringens* type A entérotoxigène. En 1939, un auteur rapporte l'histoire d'un foyer d'intoxication alimentaire et incrimine un *C. perfringens* non producteur des toxines létales majeures. A partir de ce moment, de nombreux articles décrivent la même affection, caractérisée par des nausées, coliques et de la diarrhée, parfois accompagnées de vomissements et, faute de connaître l'existence de l'entérotoxine, c'est la toxine alpha qui est incriminée comme responsable des troubles. Cette affection bénigne en ce sens qu'elle est rarement mortelle, est depuis longtemps (Prévoit et al., 1967) considérée comme une des premières causes d'intoxication alimentaire dans le monde entier (Duncan 1970, Willis et Phillips, 1988). Les aliments les plus souvent accusés sont les viandes (surtout de bœuf et poulet) ou les poissons cuits et qui n'ont pas été refroidis suffisamment rapidement (Prévoit et al., 1967, Hewit et al., 1985). Les aliments responsables contiennent de 2.10^4 à 9.10^7 *C. perfringens* par gramme (Genigeorgis 1975). La plupart des bactéries peuvent produire des spores thermorésistantes car elles sont issues des spores ayant résisté à la cuisson des aliments. La maladie a été bien décrite, en 1989, par Gross et al., lors d'un foyer d'intoxication collective.

Il constate de la diarrhée dans 100 % des cas et des douleurs abdominales dans 81 %. L'incubation moyenne est de 13 heures et la durée moyenne de 21 heures. Les nombreuses bactéries ingérées, se multiplient dans l'intestin et sporulent en produisant de grandes quantités d'entérotoxine qui provoque la diarrhée (Niilo 1980).

En 1984, Borriello et al., en Grande-Bretagne, soupçonnent *C. perfringens* entérotoxigène d'être responsable de diarrhée consécutive à un traitement antibiotique. Larson et Boriello, en 1988, constate le même phénomène dans des cas de diarrhée infectieuse mais le qualifie de marginal par rapport aux diarrhées provoquées par *Clostridium difficile*.

Le diagnostic de cette affection n'est pas toujours des plus aisés. Classiquement, on recherchait la présence de souches thermorésistantes mais il apparut par la suite que ces souches étaient simplement sélectionnées par le chauffage préliminaire de l'aliment sans préjuger de leur caractère entérotoxigène (Genigeorgis 1975). D'ailleurs ces souches thermorésistantes se retrouvent en plus grande proportion dans l'intestin de l'homme que chez les animaux (Genigeorgis 1975). La sérotypie et la bactériocinotypie ont été extensivement utilisés avant la caractérisation de la toxine. Cependant les souches entérotoxigènes ne sont pas liées à une population homogène de germes. Ces moyens servent encore comme outils épidémiologiques en permettant l'identification de la souche responsable par étude bactériologique simultanée de l'aliment responsable et d'échantillons de selles de malades (Stringer et al., 1980, Gross et al., 1989). La grande variabilité des sérotypes rencontrés est très favorable à ce genre d'étude mais nécessite de nombreux réactifs et un énorme travail. Le comptage des formes végétatives et/ou sporulées dans les selles a été proposé comme moyen de diagnostic complémentaire par certains auteurs (Gross et al., 1989) mais contesté par d'autres (Birkhead et al., 1988). L'isolement de souches entérotoxigènes à partir

des selles ne semble pas significatif car certains travaux mentionnent une prévalence de 80 à 100 % de telles souches dans l'intestin humain (Genigeorgis 1975). Enfin, la détection d'entérotoxine en grande quantité dans l'intestin semble le test de choix. Ce test peut être décisif s'il détecte une quantité suffisante de toxine dans l'intestin (Stringer et al., 1980). Une revue des principaux tests de détection de l'entérotoxine dans les selles a été réalisée par Willis (Willis et Phillips, 1988).

La reproduction expérimentale de la maladie a été tentée avec succès chez le singe (Duncan et Strong, 1971, Strong et al., 1971, Hauschild et al., 1971b) et chez l'homme (Skjelkvale et Uemura, 1977) à partir de culture de *C. perfringens* type A entérotoxigène ou d'entérotoxine purifiée.

La forte prévalence de ces souches ne semble pas provoquer une forte séroconversion chez l'homme (Niilo et Bainborough, 1980) même après la maladie (Genigeorgis 1975) ou une inoculation expérimentale *per os* (Skjelkvale et Uemura, 1977). Cependant une faible immunité spécifique semble fort répandue dans certaines populations (Genigeorgis 1975) suite à une faible résorption de la toxine par l'intestin. L'exposition répétée à l'entérotoxine entraîne une augmentation de la quantité de toxine nécessaire au déclenchement de la diarrhée chez l'homme (Skjelkvale et Uemura, 1977), fait non confirmé chez les animaux.

Espèce porcine

Deux équipes se sont intéressées à la part de *C. perfringens* type A entérotoxigène dans les problèmes de diarrhée chez le porc. Toutes les deux ont retrouvé une forte proportion de *C. perfringens* entérotoxigène ou de l'entérotoxine dans les selles de porcs diarrhéiques, essentiellement après le sevrage mais aussi à la mamelle (Jestin et al., 1985, Estrada-Correa et Taylor, 1989), mais n'ont pu détecter d'entérotoxine dans les matières fécales de porcs non diarrhéiques. Jestin et

al., en 1985, ont montré une certaine corrélation entre le taux d'entérotoxine dans les selles et la gravité de la diarrhée. Celle-ci était liée à un changement d'aliment, ou de local, et durait de 1 à 4 jours. Une séroconversion a été constatée chez certains sujets. Niilo et Bainborough (1980), au Canada, ne détectent qu'une faible séroconversion naturelle chez le porc mais Estrada-Correa et Taylor, en Ecosse, signalent la présence d'anticorps contre l'entérotoxine chez 98 truies sur un échantillon de 106. Enfin, Van Damme-Jongsten et al., (1990b) examinent des souches de *C. perfringens* type A isolées de cas de diarrhée de sevrage en Hollande et par hybridation ADN-ADN ne détecte le gène de l'entérotoxine dans aucune des souches.

En plus de la dilatation de l'anse intestinale ligaturée (Popoff et Jestin, 1985, Correa 1986), la reproduction expérimentale de la maladie a été réalisée (Correa 1986) par injection de toxine purifiée ou de cellules bactériennes végétatives ou sporulées dans le duodénum de porcs obtenus par hystérectomie et privés de colostrum. Une diarrhée aqueuse a été produite chez ces animaux. La même équipe a montré également la fixation de l'entérotoxine à l'épithélium tout le long de l'intestin mais l'activité toxique se manifeste particulièrement dans l'iléon.

Espèce canine

Outre la reproduction expérimentale de diarrhée chez le chien par l'administration d'un surnageant de culture riche en spores, sous diverses formes et par diverses voies d'administration (Bartlett et al., 1972), deux groupes suspectent *C. perfringens* type A entérotoxigène d'être le responsable ou du moins l'agent secondaire de diarrhée chez le chien.

En 1988, Twedt et al., étudient la présence d'entérotoxine de *C. perfringens* dans les selles de chiens diarrhéiques à l'aide d'une trousse commerciale (agglutination de particules de latex). Ils mentionnent 28 examens positifs et isolent des

souches de *C. perfringens* de 24 d'entre eux. Ces 28 individus peuvent être divisés en 3 groupes: 4 chiens étaient présentés pour diarrhée aiguë, 18 souffraient également de diarrhée aiguë mais avaient été hospitalisés pour d'autres raisons et 6 souffraient de diarrhée chronique.

En 1989, Kruth et al., organisent une étude prospective sur des chiens entrant en hospitalisation et développant ou non de la diarrhée pendant cette période. Ils détectent de l'entérotoxine par un test ELISA dans les selles de 41 % des chiens malades contre 7 % des témoins, le nombre de *C. perfringens* dans les matières fécales est de $10^{6,34}$ contre $10^{4,75}$ et la sérotypie des souches isolées montre 38 sérotypes différents et une grande variabilité entre les individus et même au sein d'un même individu. Un des animaux, euthanasié, a montré des lésions nécrotiques de l'intestin grêle qu'on attribuerait plutôt aux toxines létales majeures telles que la toxine alpha ou bêta. De nombreux bâtonnets Gram positifs, ressemblant à des *C. perfringens*, sont associés aux débris cellulaires dans l'intestin.

Les deux publications discutent le fait que l'augmentation du nombre de *C. perfringens* et de la quantité d'entérotoxine dans l'intestin pourrait également être secondaire au déclenchement de la diarrhée, elle-même provoquée par le changement d'environnement (stress, alimentation, médicaments).

Espèce ovine

Une seule équipe, au Canada, a étudié, entre 1967 et 1985, l'influence des souches entérotoxigènes et de l'entérotoxine elle-même sur les ovins.

En 1967 (Hauschild et al., 1967), les auteurs administrent des cultures de souches de *C. perfringens* type A isolées de cas d'intoxication alimentaire de l'homme ou d'autres origines, à des moutons, *per os* ou directement dans le duodénum. Ils produisent de la diarrhée avec les deux inoculums dans les 6 à 12 heures qui suivent l'administration.

Elle perdure en moyenne 13 heures. En 1969, de nouveau par inoculation intraduodénale, ils suspectent l'intervention d'un constituant inconnu, thermosensible et produit par les cellules en sporulation dans l'intestin (Hauschild et al., 1970a). Enfin, en 1985, par la même technique, ils déterminent la quantité minimale d'entérotoxine purifiée à injecter (100 mg) pour obtenir de la diarrhée après une incubation de 3 à 5 heures et avec une persistance moyenne de 2 à 3 heures. Ils constatent également qu'il n'est possible de réisoler la souche expérimentale qu'aux environs de la sixième heure après l'administration; par la suite ils ne l'obtiennent plus. Ce qui semble indiquer une courte persistance dans l'intestin.

C'est la même équipe, qui isole, en 1971 (Hauschild et al., 1971a), le facteur responsable d'érythème cutané après injection chez le cobaye, le considère comme responsable d'un afflux de liquides dans l'anse ligaturée du mouton et propose de l'appeler «*C. perfringens* enterotoxin». Les auteurs avaient exclu l'intervention des autres toxines de *C. perfringens* par une neutralisation de celles-ci par un antisérum préparé contre une souche de type A non entérotoxigène. Ils localisent ce facteur plutôt dans les corps bactériens sporulés que dans le surnageant de culture (Hauschild et al., 1970b).

Enfin, ils testent les effets de l'injection d'extraits bactériens sporulés, par voie intraveineuse (Niilo 1971, Niilo 1972). Ils constatent de la diarrhée, lacrimation, salivation et lassitude accompagnées de dyspnée entre 1 et 5 heures après l'injection. Les fortes doses conduisent à la mort. Les lésions constatées sont une congestion intestinale, de même qu'une congestion du foie, des poumons, de la rate et des reins avec parfois de l'ascite ou un hydrothorax. Ils attribuent ces anomalies à une augmentation de la perméabilité capillaire, une vasodilatation généralisée et une augmentation de la motilité intestinale. L'hypotension consécutive à la vasodilatation semble responsable du choc hypo-

volémique éventuel et de la mort (Niilo 1972).

Niilo, en 1978, identifie une souche entérotoxigène parmi 7 souches issues de moutons atteints d'entérite (Niilo 1978). Une enquête sérologique menée par le même auteur, en 1980, au Canada, ne détecte pas de séroconversion naturelle chez 165 moutons pris au hasard. De fait, même après inoculation expérimentale dans l'intestin, le taux d'anticorps spécifiques à ce facteur ne semble pas s'élever très fort (Niilo et al., 1971, Niilo et Cho, 1985). Une vaccination à partir de cultures sporulées formolées, bien quelle provoque une augmentation du taux d'anticorps neutralisant l'activité toxique *in vitro* de l'entérotoxine, ne protège pas l'intestin des effets de la toxine (Hauschild et al., 1967, Hauschild et al., 1970b, Niilo et al., 1971).

Toutes ces études ne démontrent nullement l'implication des *C. perfringens* type A entérotoxigènes dans une quelconque pathologie chez le mouton.

Espèce bovine

Comme chez le mouton, aucune étude ne démontre formellement l'intervention de *C. perfringens* type A entérotoxigène dans une pathologie bovine. Cependant Genigeorgis, en 1975, détecte la production d'entérotoxine chez 68 % des souches isolées de bovins et une séroconversion vis-à-vis de ce facteur de 100 % (Genigeorgis 1975). Niilo, en 1978, au Canada, semble associer ce type de *C. perfringens* à des cas d'entérite du veau (7 souches productrices d'entérotoxine sur 47 issues de veaux diarrhéiques contre 0 sur 31 provenant de veaux non diarrhéiques). Au contraire, De Rycke et al., en France, en 1986, signalent la présence d'entérotoxine chez 10 % de veaux d'une huitaine de jours qu'ils soient ou non diarrhéiques; le taux d'anticorps spécifiques est aussi le même dans les deux groupes. Dans une autre étude sur sept veaux diarrhéiques ils ne détectent pas d'entérotoxine mais des *C. perfringens* en grand nombre, ainsi que des anticorps spécifiques de l'entérotoxine dans leur sérum.

Ils en déduisent que les souches de *C. perfringens* type A entérotoxino-gène sont très répandues dans la nature et stimulent continuellement l'immunité naturelle au départ de l'intestin. Enfin, Popoff et Lecoanet, en 1987, détectent de l'entérotoxine en quantité importante dans l'intestin d'un veau mort en plus de la présence de toxine botulinique D.

Niilo et Dorward, en 1971, ne parviennent à produire de la diarrhée chez des veaux et une dilatation de l'anse intestinale ligaturée de veau avec des souches de type A que si elles sont entérotoxino-gènes. En 1985, ils produisent à nouveau de la diarrhée chez 4 veaux de 4 mois en administrant une culture totale, vivante ou traitée aux ultra-sons, par voie intraduodénale (Niilo et Cho, 1985). Ils détectent par un test ELISA, une légère séroconversion mais ne peuvent la relier à la gravité de la diarrhée. Le même auteur ne détecte d'ailleurs qu'une faible immunité humorale naturelle dans un sondage de 345 sérums (Niilo et Bainborough, 1980). Enfin, celui-ci étudie également l'effet de l'injection intraveineuse de toxine (Niilo 1973) et retrouve les mêmes observations que chez le mouton; c'est-à-dire lassitude, dyspnée, hypotension, tachycardie et mortalité. A l'ouverture du cadavre, l'hyperhémie de l'intestin grêle domine, parfois accompagnée de pétéchies disséminées, d'ascite ou d'oedème pulmonaire.

Volailles

Chez la volaille non plus l'entérotoxine n'a pu être associée à aucune pathologie jusqu'ici. Cependant, des souches entérotoxino-gènes ont été isolées de volailles par Genigeorgis, en 1975 (60 % des souches étudiées) et Niilo, en 1978 (5 souches sur 23). Le dernier auteur a montré que ces souches produisaient une activité entérotoxique sur l'anse intestinale ligaturée de poulet (Niilo 1974). Il a aussi démontré que l'entérotoxine est létale chez le poulet par injection intraveineuse (Niilo 1976). Les animaux inoculés passent par une phase d'abattement se manifestant

immédiatement après l'injection, une phase de légère récupération, puis la mort survient entre la septième et la trente-cinquième heure chez tous les animaux ayant manifesté des troubles. A l'autopsie, la congestion de l'intestin, l'hydropéritoine, l'oedème musculaire, la congestion hépatique et les dépôts d'urates sur le péritoine et le péricarde sont à noter.

DISCUSSION

Les chapitres qui précèdent montrent bien la complexité de la mise en évidence de la responsabilité de *C. perfringens* comme agent d'une pathologie donnée, surtout en ce qui concerne *C. perfringens* type A (entérotoxino-gène ou non). Le caractère ubiquiste de ce germe appelle à l'utilisation de tests sophistiqués pour pouvoir impliquer tel ou tel facteur de virulence comme nécessaire et suffisant pour le développement d'un trouble clinique. Le grand nombre des enzymes produites par chaque isolat vient également compliquer l'interprétation. Les progrès récents de la biologie moléculaire (sondes génétiques, mutations ponctuelles dirigées,...) et de l'immunologie (anticorps monoclonaux, tests ELISA) permettent d'entreprendre de nouveaux types d'épreuves, impossibles à réaliser jusqu'à présent. Ils permettront sans doute d'éclairer le rôle de la toxine alpha et de l'entérotoxine dans les pathologies animales (Rood et Cole 1991) et d'en estimer l'importance économique réelle.

Nous reprenons, de façon synthétique, dans le tableau 7, les pathologies liées aux cinq catégories définies ci-dessus avec chaque fois les espèces-cibles et les classes d'âge dans lesquelles elles se manifestent.

Expérimentalement, la plupart des affections naturelles peuvent être reproduites par une administration intraduodénale de culture complète, de cellules resuspendues dans du milieu frais, d'extraits cellulaires, de surnageants de culture ou même de toxine purifiée selon les cas. Les affections faisant intervenir les toxines

alpha et bêta demandent en général la présence de bactéries en multiplication dans l'intestin, l'administration de surnageant de culture ou de toxine purifiée ne provoquant que de légers symptômes passagers. Les affections liées à la toxine epsilon nécessitent la présence dans l'intestin d'une quantité importante de toxine pendant un laps de temps assez long pour le déclenchement de la maladie. Ce ne peut être obtenu que par une administration conjointe de culture vivante et de substrat nutritif. Enfin, l'entérotoxine peut provoquer de la diarrhée dans toutes les espèces sans l'intervention d'autres facteurs d'origine bactérienne, si elle est administrée directement dans le duodénum.

Pour ce qui est du diagnostic, la recherche des toxines dans le contenu de l'intestin et les liquides cavitaires (pour les toxines létales majeures) semble l'examen de choix surtout depuis l'apparition de nouvelles méthodes immunologiques sensibles et spécifiques. Cependant un test positif peut rarement, à lui seul déterminer le diagnostic clinique et nécropsique. Un comptage ou du moins une étude des proportions des germes présents dans l'intestin doit être entreprise. Dans les cas où la toxine alpha ou l'entérotoxine sont suspectées, d'autres tests, tels que des examens histologiques, sérologiques ou des tests de sérotypie et de toxintypie sur des souches isolées doivent être réalisés conjointement, du moins tant que ces syndromes ne seront pas mieux connus.

Enfin, en ce qui concerne la prophylaxie, le problème est fort semblable à celui rencontré pour le diagnostic. Si la prophylaxie médicale par vaccination a depuis longtemps fait ses preuves dans les affections provoquées par les toxines bêta et epsilon, rien n'est moins sûr en ce qui concerne la toxine alpha et l'entérotoxine (cfr Tableau 7). Il semblerait cependant, du moins chez le porc, qu'une bonne séroconversion vis-à-vis de la toxine alpha protège contre une inoculation massive de *C. perfringens* type A. Pour l'entérotoxine, dont le rôle semble limité à

TABLEAU 7

Principales pathologies d'origine intestinale attribuées à *Clostridium perfringens*

Les pathologies présentées entre parenthèses sont suspectées mais soit les preuves apportées par la littérature ne sont pas suffisantes, soit *Clostridium perfringens* ne semble qu'un agent secondaire dans la maladie.

Catégorie	Principale toxine produite	Espèce-cible	Age	Pathologie	Vaccination
1	alpha	porcins	1ère semaine	entérite nécrotique	oui, de la mère
		bovins	tout âge mais surtout 1 à 4 mois	(ictère hémoglobinurique) (entérite, abomasite)	données insuffisantes
		ovins et caprins	tout âge	(ictère, entérotoxémie)	données insuffisantes
		équins	adultes	colite	données insuffisantes
		canins et félins	adultes	(gastroentérite aiguë) (entérite chronique)	données insuffisantes
		volailles	2 à 6 semaines	entérite nécrotique	données insuffisantes
2	bêta	porcins	1ère semaine	entérite nécrotique	oui, de la mère
		bovins	deux 1ères semaines	entérite nécrotique	oui, de la mère
		ovins et caprins	1ère semaine	entérite nécrotique	oui, de la mère
			adultes	entérotoxémie	oui, de l'individu
		équins	1ère semaine	entérite nécrotique	oui, de la mère
		humains	tout âge mais après le sevrage	entérite nécrotique	oui, de l'individu
		volailles	2 à 6 semaines	entérite nécrotique	données insuffisantes
3	epsilon	bovins	tout âge sauf nouveaux-nés	entérotoxémie (rare)	oui, de l'individu
		ovins	tout âge sauf nouveaux-nés	entérotoxémie	oui, de l'individu
		équins	tout âge sauf nouveaux-nés	entérotoxémie	données insuffisantes
		humains	adultes	entérotoxémie	données insuffisantes
		cervidés	tout âge sauf nouveaux-nés	entérotoxémie	oui, de l'individu
		chinchilla	tout âge sauf nouveaux-nés	entérotoxémie	oui, de l'individu
4	iota	bovins	deux 1ères semaines	entérite nécrotique (rare)	données insuffisantes
5	entérotoxine	humains	tout âge sauf nouveaux-nés	intoxication alimentaire	non, inefficace
			tout âge sauf nouveaux-nés	(diarrhée post-antibiotique)	données insuffisantes
		porcins	tout âge mais surtout après sevrage	diarrhée	non, inefficace
		canins	tout âge sauf nouveaux-nés	diarrhée nocosomiale	non, inefficace

une action sur l'épithélium intestinal, la vaccination ne semble pas être une solution efficace pour contrer la diarrhée et donc ici seul le contrôle du degré de contamination de l'aliment ingéré semble essentiel. Ceci étant dit, la plupart des affections d'origine digestive causées par *C. perfringens* sont liées au type d'alimentation que ce soit par ingestion d'un aliment fortement contaminé (intoxication alimentaire), par absorption d'un aliment riche en trop grande quantité ou suite à un changement brusque d'aliment (affections dues à la toxine epsilon), ou suite à une composition particulière de l'aliment (maladies liées à la toxine bêta). Une action sur ces paramètres, si elle est possible, peut faire chuter fortement l'incidence de la plupart de ces pathologies.

Il ressort de cette revue que de nouvelles études doivent être entreprises concernant les affections liées à la toxine alpha chez les animaux et chez l'homme et à l'entérotoxine chez les animaux. Celles-ci seront facilitées par les nouveaux moyens d'investigation (génétique et immunologique) actuellement à notre disposition afin de pouvoir vraiment décider de l'implication ou non de ces deux facteurs de virulence comme agents primaires dans les pathologies d'origine intestinale. De plus, l'entérotoxine qui est rendue responsable de nombreuses intoxications alimentaires chez l'homme et qui, expérimentalement est capable de provoquer de la diarrhée chez toutes les espèces animales, n'a pas encore été clairement rendue responsable d'affections chez les animaux, excepté peut-être chez le porc et le chien. Une étude approfondie de ce type de *C. perfringens* est nécessaire à une meilleure compréhension de l'épidémiologie de ces affections chez l'animal.

BIBLIOGRAPHIE

- AL-MASHAT R.R., TAYLOR D.J. Bacteria in enteric lesions of cattle. *Vet. Rec.*, 1983, **112**, 5-10.
- AL-MASHAT R.R., TAYLOR D.J. Bacteria in enteric lesions of horses. *Vet. Rec.*, 1986, **118**, 453-458.
- AL-SHEIKHLY F., TRUSCOTT R.B. The pathology of necrotic enteritis of chickens following infusion of broth cultures and crude

toxins of *Clostridium perfringens* into the duodenum. *Avian Dis.*, 1977 (a), **21**, 230-240.

AL-SHEIKHLY F., TRUSCOTT R.B. The interaction of *Clostridium perfringens* and its toxins in the production of necrotic enteritis of chickens. *Avian Dis.*, 1977 (b), **21**, 256-263.

- ARBUCKLE J.B.R. The attachment of *Clostridium welchii* type C to the intestinal villi of pigs. *J. Pathol.*, 1972, **106**, 65-72.
- AMTSBERG G.W., BISPING W., EL-SULKHON S.N., MATTHIESEN I., KROBISCHI P. *Clostridium perfringens* type A infectie. *Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift.*, 1976, **21**, 409-414.
- BAILLEUL M.N. Etude diagnostique et pathogénique des entérotoxiémies chez les bovins. Thèse Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, 1982, **124**.
- BALDWIN E.M., FREDERICK L.D., RAY J.D. The control of ovine enterotoxaemia by the use of *Clostridium perfringens* type D bacterin. *Am. J. Vet. Res.*, 1948, **9**, 296-303.
- BARNES D.M., MOON H.W. Enterotoxaemia in pigs due to *Clostridium perfringens* type C. *J.A.V.M.A.*, 1964, **144**, 1391-1394.
- BARNES E.M., MEAD G.C., BARNUM D.A., HARRY E.G. The intestinal flora of the chicken in the period 2 to 6 weeks of age, with particular reference to the anaerobic bacteria. *Brit. Poult. Sci.*, 1972, **13**, 311-326.
- BARTLETT M.L., WALKER H.W., ZIPPIN R. Use of dogs as an assay for *Clostridium perfringens* enterotoxin. *Appl. Microbiol.*, 1972, **23**, 196-197.
- BATTY I., THOMSON A., HEPPLER J.R. The active immunization of newborn lambs against pulpy kidney disease. *Vet. Rec.*, 1954, **66**, 249-254.
- BENNETTS H.W. Infectious enterotoxaemia (the so-called braxy-like disease) of sheep in Western Australia. *Bull. Counc. Sci. Industr. Res. Australia*, 1932, **57**.
- BERG J.N., FALES W.H., SCANLAN C.M. Occurrence of anaerobic bacteria in diseases of the dog and cat. *Am. J. Vet. Res.*, 1979, **40**, 876-881.
- BERGELAND M.E. Pathogenesis and immunity of *Clostridium perfringens* type C enteritis in swine. *J.A.V.M.A.*, 1972, **160**, 568-571.
- BERNIER G., PHANEUF J.B., FILION R. Entérite nécrotique chez le poulet de gril. I. Aspect clinico-pathologique. *Can. J. Comp. Med.*, 1974 (4), **38**, 280-285.
- BERNIER G., FILION R., MALO R., PHANEUF J.B. Entérite nécrotique chez le poulet de gril. II. Caractères des souches de *Clostridium perfringens* isolées. *Can. J. Comp. Med.*, 1974 (b), **38**, 286-291.
- BIRKHEAD G., VOGT R.L., HEUN E.M., SNYDER J.T., MACCLANE B.A. Characterization of an outbreak of *Clostridium perfringens* food poisoning by quantitative fecal culture and fecal enterotoxin measurement. *J. Clin. Microbiol.*, 1988, **26**, 471-474.
- BITTNER J., ANTOHI M., VOINESCU V., NICOLESCU M., BATTITA GH. *Clostridium perfringens* food-borne disease and bacteriological analysis for strain identification. *Arch. Roum. Pathol. Exp. Microbiol.*, 1980, **39**, 95-103.
- BLACKWELL T.E., BUTLER D.G., BELL J.A. Enterotoxaemia in the goat: the humoral response and local tissue reaction following vaccination with two different bacterin-toxoids. *Can. J. Comp. Med.*, 1983, **47**, 127-132.
- BLOOD D.C., HELWING D.M. Enterotoxaemia of calves. *Aust. Vet. J.*, 1957, **33**, 144-146.
- BORIELLO S.P., WELCH A.R., LARSON H.E., BARCLAY F. Enterotoxigenic *Clostridium perfringens*: a possible cause of antibiotic-associated diarrhoea. *The Lancet*, 1984, **11**, 305-307.
- BOSWORTH T.J. On a new type of toxin produced by *Clostridium welchii*. *J. Comp. Pathol.*, 1943, **53**, 245.
- BRANT P.C., RIEMANN H.P., FRANTI C.E., TORRES-ANJEL M. Factors influencing the prevalence of *Clostridium perfringens* type A in zebu beef cattle in the states of Minas Gerais and Goiás Brazil. *Rev. Lat.-Amer. Microbiol.*, 1978, **20**, 135-138.
- BRIERE J. Enterotoxiémie du chien ? *Bull. Soc. Vet. Prat. de France*, 1983, **67**, 65-66.
- BROOKS M.E., STERNE M., WARRACK G.H. A reassessment of the criteria used for type differentiation of *Clostridium perfringens*. *J. Pathol. Bacteriol.*, 1957, **74**, 185-195.
- BROUSSARD-CT, HOFACRE C.L., PAGE R.K., FLETCHER O.J. Necrotic enteritis in cage-reared commercial layer pullets. *Avian Dis.*, 1986, **30**, 617-619.
- BULLEN J.J. Enterotoxaemia of sheep: *Clostridium welchii* type D in the alimentary tract of normal animals. *J. Pathol. Bacteriol.*, 1952, **64**, 201-206.
- BULLEN J.J., SCARISBRICK R. Enterotoxaemia of sheep: the fate of washed suspensions of *Clostridium welchii* type D introduced into the rumen of normal sheep. *J. Pathol. Bacteriol.*, 1953, **65**, 209-219.
- BULLEN J.J., BATTY I. The effect of *Clostridium welchii* type D culture filtrates on the permeability of the mouse intestine. *J. Pathol. Bacteriol.*, 1956, **71**, 311-323.
- BULLEN J.J., SCARISBRICK R. Enterotoxaemia of sheep: experimental reproduction of the disease. *J. Pathol. Bacteriol.*, 1957, **73**, 495-509.
- BULLEN J.J., BATTY I. Enterotoxaemia of sheep. *Vet. Rec.*, 1957 (a), **69**, 1268-1273.
- BULLEN J.J., BATTY I. Experimental enterotoxaemia of sheep: the effect on the permeability of the intestine and the stimulation of antitoxin production in immune animals. *J. Pathol. Bacteriol.*, 1957 (b), **73**, 511-518.
- BULLEN J.J. Role of toxins in host-parasite relationships. In *Microbial Toxins*, Vol. I S.J. Aji, S. Kadis and T.C. Montie, Eds., 1970, pp. 233-276.
- BUXTON D., MORGAN K.T. Studies of lesions produced in the brains of colostrum deprived lambs by *Clostridium welchii*, *Clostridium perfringens*, type D toxin. *J. Comp. Pathol.*, 1976, **86**, 435-447.
- BUXTON D., LINKLATER K.A., DYSON D.A. Pulpy kidney disease and its diagnosis by histological examination. *Vet. Rec.*, 1978, **102**, 241.
- BUXTON D., MACLEOD N.S.M., NICOLSON T.B. Focalsymmetrical encephalomalacia in young cattle. *Vet. Rec.*, 1981, **108**, 459.
- CAMERON C.M. Effective immunization of lambs against enterotoxaemia. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 1980, **47**, 287-289.
- CANARD B., COLE S.T. Genome organization of the anaerobic pathogen *Clostridium perfringens*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, **86**, 6676-6680.
- CARMAN R.J. Recurrent diarrhoea in a dog associated with *Clostridium perfringens* type A. *Vet. Rec.*, 1983, **112**, 342-343.
- CARROLL C.L., HAZARD G., COLOE P.J., HOOPER P.T. Laminitis and possible enterotoxaemia associated with carbohydrate overload in mares. *Equine Vet. J.*, 1987, **19**, 344-346.
- CATO E.P., GEORGE W.L., FINEGOLD S.M. *Clostridium perfringens*. In Sneath P.H.A. (ed.) *Bergey's manual of systematic bacteriology*, Williams & Wilkins, Baltimore, 1986, Vol. **2**, pp. 1179-1182.
- CHAKRABARTY A.K., DUTTA B.M., SHARMA A.K., MUKIT A., BARUAH G.K., BORO B.R., DAS S.K. Enterotoxaemia in goats due to *Clostridium perfringens* type D. *Indian Vet. J.*, 1980, **57**, 195-197.
- CLARKSON M.J., FAULL W.B., KERRY J.B. Vaccination of cows with clostridial antigens and passive transfer of clostridial antibodies from bovine colostrum to lambs. *Vet. Rec.*, 1985, **116**, 467-469.
- COLLEE J.G., KNOWLDEN J.A., HOBBS B.C. Studies on the growth, sporulation and carriage of *Clostridium welchii* with special reference to food poisoning strains. *J. Appl. Bacteriol.*, 1961, **24**, 326-339.
- CORREA A.E.E. Studies of *Clostridium perfringens* type A enteritis in the pig. Thèse, Glasgow, UK, 1986, 1-324.
- COWEN B.S., SCHWARTZ L.D., WILSON R.A., AMBRUS S.I. Experimentally induced necrotic enteritis in chickens. *Avian Dis.*, 1987, **31**, 904-906.
- CRAIG J.P., MILES A.A. Some properties of the iota-toxin of *Clostridium welchii*, including its action on capillary permeability. *J. Pathol. Bacteriol.*, 1961, **81**, 481-493.
- DART A.J., PASCOE R.R., GIBSON J.A. Enterotoxaemia in a foal due to *Clostridium perfringens* type A. *Aust. Vet. J.*, 1988, **65**, 330-331.
- DE RYCKE J., BERNARD S., LAPORTE J., NACIRI M., POPOFF M. Prevalence of various enteropathogens in the feces of diarrheic and healthy calves. *Annales de Recherches Vétérinaires*, 1986, **17**, 159-168.

- DHOLAKIA P.M., SAXENA S.P., HERANJAL D.D. Studies on pathogenesis and pathology of experimental toxæmia due to *Clostridium welchii* type D in mice, rabbit and sheep. *Indian Vet. J.*, 1981, **58**, 681-682.
- DICKIE C.W., KLINKERMAN D.L., PETRIE R.J. Enterotoxæmia in two foals. *J.A.V.M.A.*, 1978, **173**, 306-307.
- DUNCAN C.L., STRONG D.H. Improved medium for sporulation of *Clostridium perfringens*. *Appl. Microbiol.*, 1968, **16**, 82-89.
- DUNCAN C.L., SUGIYAMA H., STRONG D.H. Rabbit ileal loop response to strains of *Clostridium perfringens*. *J. Bacteriol.*, 1968, **95**, 1560-1566.
- DUNCAN C.L., STRONG D.H. Ileal loop fluid accumulation and production of diarrhoea in rabbits by cell-free product of *Clostridium perfringens*. *J. Bacteriol.*, 1969, **100**, 86-94.
- DUNCAN C.L. *Clostridium perfringens* food poisoning. *J. Milk Food Technol.*, 1970, **33**, 35-41.
- DUNCAN C.L., STRONG D.H. *Clostridium perfringens* type A food poisoning. I. Response of the rabbit ileum as an indicator of enteropathogenicity of strains of *Clostridium perfringens* in monkeys. *Infect. Immun.*, 1971, **3**, 167-170.
- EDGAR G. Some considerations of the predisposing causes and methods of control of enterotoxæmia. *Aust. Vet. J.*, 1938, **14**, 234-240.
- ENGLISH A.W. Enterotoxæmia caused by *Clostridium perfringens* type D in farmed fallow deer. *Aust. Vet. J.*, 1985, **62**, 320.
- ENGLISH J.E. Field experience with *Clostridium* enterotoxæmia in young animals. *J.A.V.M.A.*, 1966, **149**, 1565-1570.
- ESPINASSE J. Les maladies à anaérobies des bovins. *Bull. GTV*, 1980, **6**, 33-41.
- ESTRADA-CORREA A.E., TAYLOR D.J. Porcine *Clostridium perfringens* type A spores, enterotoxin and antibody to enterotoxin. *Vet. Rec.*, 1989, **124**, 606-610.
- FIELD H.I., GIBSON E.A. Studies on piglet mortality. *Clostridium welchii* infection. *Vet. Rec.*, 1955, **67**, 31-35.
- FIELD H.I., GOODWIN R.F.W. The experimental reproduction of enterotoxæmia in piglets. *J. Hyg.*, 1959, **57**, 81-91.
- FLEMING S. Enterotoxemia in neonatal calves. *Food Anim. Pract.*, 1985, **1**, 509-514.
- FRANK F.W. *Clostridium perfringens* type B from enterotoxæmia in young ruminants. *Am. J. Vet. Res.*, 1956, **17**, 492-494.
- FRERICHS G.N., GRAY A.K. The relation between the rabbit potency test and the response of sheep to sheep clostridial vaccines. *Res. Vet. Sci.*, 1975, **18**, 70-75.
- FUKATA T., HADATE Y., BABA E., UEMURA T., ARAKAWA A. Influence of *Clostridium perfringens* and its toxin in germ-free chickens. *Res. Vet. Sci.*, 1988, **44**, 68-70.
- GARDNER D.E. Pathology of *Clostridium welchii* type D enterotoxæmia. I. Biochemical and haematological alterations in lambs. *J. Comp. Pathol.*, 1973 (a), **83**, 499-507.
- GARDNER D.E. Pathology of *Clostridium welchii* type D enterotoxæmia. II. Structural and ultrastructural alteration in the tissues of lambs and mice. *J. Comp. Pathol.*, 1973 (b), **83**, 509-524.
- GARDNER D.E. Pathology of *Clostridium welchii* type D enterotoxæmia. III. Basis of the hyperglycaemic response. *J. Comp. Pathol.*, 1973 (c), **83**, 525-529.
- GAY C.C., BLOOD D.C., WILKINSON J.S. Clinical observations of sheep with focal symmetrical encephalomalacia. *Aust. Vet. J.*, 1975, **51**, 266-269.
- GENIGEORGIS C. Public health importance of *Clostridium perfringens*. *J.A.V.M.A.*, 1975, **167**, 821-827.
- GEORGE B.A., QUARLES C.L., FABERGER D.J. Virginiamycin effects on controlling necrotic enteritis infection in chickens. *Poultry Sci.*, 1982, **61**, 447-450.
- GILL D.A. Some aspects of enterotoxæmia in New Zealand. *Aust. Vet. J.*, 1934, **10**, 212-216.
- GLENNY A.T., BARR M., JONES M.L., DALLING T., ROSS H.E. Multiple toxins produced by some organisms of the *Clostridium welchii* group. *J. Pathol. Bacteriol.*, 1933, **37**, 53.
- GORDON W.S., STEWART J., HOLMAN H.H., TAYLOR W. Blood changes and post-mortem finding following intravenous inoculation of sheep with culture filtrates of *Clostridium welchii*, type A, C and D. *J. Pathol. Bacteriol.*, 1940, **50**, 251-269.
- GRIESEMER R.A., KRILL W.R. Enterotoxæmia in beef calves: 30 years' observation. *J.A.V.M.A.*, 1962, **140**, 154-158.
- GRINER L.A., BRACKEN F.K. *Clostridium perfringens*, type C, in acute hemorrhagic enteritis of calves. *J.A.V.M.A.*, 1953, **122**, 99-102.
- GRINER L.A., JOHNSON H.W. *Clostridium perfringens* type C in hemorrhagic enterotoxæmia of lambs. *J.A.V.M.A.*, 1954, **125**, 125-127.
- GRINER L.A., AICHELMAN W.W., BROWN G.D. *Clostridium perfringens* type D, epsilon, enterotoxemia in brown swiss dairy calves. *J.A.V.M.A.*, 1956, **129**, 375-376.
- GRINER L.A. Enterotoxæmia of sheep: I. Effects of *Clostridium perfringens* type D toxin on the brain of sheep and mice. *Am. J. Vet. Res.*, 1961, **22**, 429-442.
- GRINER L.A., CARLSON W.D. Enterotoxæmia of sheep: II. Distribution of I131-radiiodinated serum albumin in brains of *Clostridium perfringens* type D intoxicated lambs. *Am. J. Vet. Res.*, 1961, **22**, 443-446.
- GRINER L.A. Some factors influencing the incidence of enterotoxæmia in domestic animals. *Bull. Off. Int. Epiz.*, 1963, **59**, 1443-1451.
- GROSS T.P., KAMARA L.B., HATHEWAY C.L., POWERS P. *Clostridium perfringens* food poisoning: Use of serotyping in an outbreak setting. *J. Clin. Microbiol.*, 1989, **27**, 660-663.
- GRIFFIN J.F.T. Acute bacterial infections in farmed deer. *Irish Vet. J.*, 1987, **41**, 328-331.
- HAFFAR A., LAVAL A., GUILLOU J.P. *Clostridium spiroforme* enterotoxæmia in adult rabbits. *Point Vétérinaire*, 1988, **20**, 99-102.
- HALL H.E., ANGELOTTI R., LEWIS K.H., FOTER M.J. Characteristic of *Clostridium perfringens* strains associated with food and food-borne disease. *J. Bacteriol.*, 1963, **85**, 1094-1096.
- HARSHIELD G.S., CROSS F., HOERLEIN A.B. Further studies on overeating, enterotoxæmia, of feedlot lambs. *Am. J. Vet. Res.*, 1942, **3**, 86-92.
- HART B., HOOPER P.T. Enterotoxæmia of calves due to *Clostridium welchii* type E. *Aust. Vet. J.*, 1967, **43**, 360-363.
- HARTLEY W.J. A focal symmetrical encephalomalacia of lambs. *NZ Vet. J.*, 1956, **4**, 129-135.
- HAUSCHILD A.H.W., NILO L., DORWARD W.J. Experimental enteritis with food poisoning and classical strains of *Clostridium perfringens* type A in lambs. *J. Inf. Dis.*, 1967, **117**, 379-386.
- HAUSCHILD A.H.W. Erythematous activity of the cellular enteropathogenic factor of *Clostridium perfringens* type A. *Can. J. Microbiol.*, 1970, **16**, 651-654.
- HAUSCHILD A.H.W., NILO L., DORWARD W.J. Enteropathogenic factors of food-poisoning *Clostridium perfringens* type A. *Can. J. Microbiol.*, 1970 (a), **16**, 331-338.
- HAUSCHILD A.H.W., NILO L., DORWARD W.J. Response of ligated intestinal loops in lambs to enteropathogenic factor of *Clostridium perfringens* type A. *Can. J. Microbiol.*, 1970 (b), **16**, 339-343.
- HAUSCHILD A.H.W., NILO L., DORWARD W.J. The role of enterotoxin in *Clostridium perfringens* type A enteritis. *Can. J. Microbiol.*, 1971 (a), **17**, 987-991.
- HAUSCHILD A.H.W., WALCROFT M.J., CAMPBELL W. Emesis and diarrhea induced by enterotoxin of *Clostridium perfringens* type A in monkeys. *Can. J. Microbiol.*, 1971 (b), **17**, 1141-1143.
- HEAT G. Survey of sheep diseases. *Vet. Rec.*, 1955, **67**, 980-983.
- HEPPLE J.R. Necrotic enterotoxæmia in a calf due to *Clostridium welchii* type B. *Vet. Rec.*, 1952, **64**, 633-634.
- HEWITT J.H., BEGG N., HEWISH J., RAWAF S., STRINGER M. Large outbreak of *Clostridium perfringens* food poisoning associated with the consumption of boiled salmon. *J. Hyg.*, 1985, **97**, 71-80.
- HOBBS B.C., SMITH M.E., OAKLEY G.H., WARRACK G.H., CRUICKSHANK J.C. *Clostridium welchii* food poisoning. *J. Hyg.*, 1953, **51**, 75-101.
- HOBBS B.C. *Clostridium welchii* as food poisoning organism. *J. Appl. Bacteriol.*, 1965, **28**, 74-82.
- HOEFLING D.C. Recognizing diarrhea caused by *Clostridium perfringens* type C. *Vet. Med.*, 1989, **84**, 437-448.

- HOGH P. The occurrence in Denmark of necrotizing enteritis in piglets caused by *Clostridium perfringens* type C. *Bull. Off. Int. Epiz.*, 1967, **67**, 1351-1359.
- HOGH P. Necrotizing infections enteritis in piglets caused by *Clostridium perfringens* type C: III. Pathological changes. *Acta Vet. Scand.*, 1969 (a), **10**, 57-83.
- HOGH P. Necrotizing infections enteritis in piglets caused by *Clostridium perfringens* type C: IV. Bacteriological diagnosis. *Acta Vet. Scand.*, 1969 (b), **10**, 84-100.
- HOGLE R.M. Clinical and laboratory diagnosis of enterotoxaemia of cattle. *Vet. Med. Small Anim. Clin.*, 1975, **70**, 983-986.
- HOWARD-MARTIN M., MORTON R.J., QUALLS C. *Clostridium perfringens* type C enterotoxaemia in a newborn foal. *J.A.V.M.A.*, 1986, **189**, 564-565.
- ISTAMATIN N., UNGUREANU C. Epizootologie des clostridioses. *Bull. Off. Int. Epiz.*, 1967, **67**, 1251-1292.
- IWANEJKO L.A., ROUTLEDGE M.N., STEWART G.S.A.B. Cloning in *E. coli* of the enterotoxin gene from *Clostridium perfringens*. *J. Gen. Microbiol.*, 1989, **135**, 903-909.
- JANSEN B.C. The production of a basic immunity against pulpy kidney disease. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 1967, **34**, 65-80.
- JARMUND T., TELLE W. Binding of *Clostridium perfringens* enterotoxin to hepatocytes, small intestinal epithelial cells and Vero cells. *Acta Pathol. Microbiol. Imm. Scand. Sect. B*, 1982, **90**, 377-381.
- JESTIN A., POPOFF M.R., MAHE S. Epizootologic investigations of a diarrheic syndrome in fattening pigs. *Am. J. Vet. Res.*, 1985, **46**, 2149-2151.
- JOHANNSEN U., ERWERTH W., KUNZ G., KOHLER B. Untersuchungen zur *Clostridium perfringens* typ C enterotoxämie, nekrotisierendur enteritis, der saugferkel. I. Versuche zur experimentellen erzeugung der krankheit durch *Clostridium-perfringens*-typ-C-intoxikation und -infektion (Versuchsansatz, klinisches krankheitsbild, sektionsbefunde). *Arch. Exper. Vet. Med.*, 1986 (a), **40**, 811-825.
- JOHANNSEN U., ERWERTH W., KUNZ G., KOHLER B. Untersuchungen zur *Clostridium perfringens* typ C enterotoxämie, nekrotisierendur enteritis, der saugferkel. II. Licht- und elektronenmikroskopische untersuchungen zur pathologie und pathogenese der experimentellen *Clostridium-perfringens*-typ-C-toxinvergiftung. *Arch. Exper. Vet. Med.*, 1986 (b), **40**, 881-894.
- JOHANNSEN U., ERWERTH W., KUNZ G., KOHLER B. Untersuchungen zur *Clostridium perfringens* typ C enterotoxämie, nekrotisierendur enteritis, der saugferkel. III. Licht- und elektronenmikroskopische untersuchungen zur pathologie und pathogenese der experimentellen *Clostridium-perfringens*-typ-C-infektion. *Arch. Exper. Vet. Med.*, 1986 (c), **40**, 895-909.
- KATITCH R.V. Entérotoxémies. In Les maladies des animaux domestiques causées par les microbes anaérobies. Vigot Frères, Paris, 1965, pp. 65-129.
- KATITCH R.V. Sur certaines de nos observations concernant l'épizootologie, la pathogénie et la prophylaxie des entérites provoquées par les *Clostridium perfringens* des types A et C. *Bull. Acad. Vét. de France*, 1987, **60**, 95-101.
- KATITCH R.V., KATRINKA M., MILITCH N. Valeur immunogène et pratique d'un vaccin polyvalent contre les maladies anaérobies du mouton. *Bull. Acad. Vét. de France*, 1988, **61**, 235-238.
- KEAST J.C., MACBARROW E.J. A case of bovine enterotoxaemia. *Aust. Vet. J.*, 1954, **30**, 305-306.
- KENNEDY K.K., NORRIS S.J., BECKENHAUER W.H., HOGG A. Vaccination of pregnant sows with *Clostridium perfringens* type C toxoid. *Vet. Med. Small Anim. Clin.*, 1977 (a), **72**, 1047-1049.
- KENNEDY K.K., NORRIS S.J., BECKENHAUER W.H., WHITE R. Antitoxin response in cattle vaccinated with *Clostridium perfringens* type C toxoid. *Vet. Med. Small Anim. Clin.*, 1977 (b), **72**, 1213-1215.
- KENNEDY K.K., NORRIS S.J., BECKENHAUER W.H., WHITE R. Vaccination of cattle and sheep with a combined *Clostridium perfringens* types C and D toxoid. *Am. J. Vet. Res.*, 1977 (c), **38**, 1515-1517.
- KERRY J.B. Field studies in sheep with multicomponent clostridial vaccines. *Vet. Rec.*, 1979, **105**, 551-554.
- KOHLER B. Untersuchungen zur nekrotisierendeneritis der saugferkel. 2. *Arch. Exper. Vet. Med.*, 1978, **32**, 841-853.
- KOHLER B., ROSCH B., HAASE H., BAUMANN G. Untersuchungen zur nekrotisierendeneritis der saugferkel, typ C, in industriemässig produzierenden sauenzuchtanlagen. 3. *Arch. Exper. Vet. Med.*, 1979, **33**, 313-333.
- KRUTH S.A., PRESCOTT J.F., WELCH M.K., BRODSKY M.H. Nocosomial diarrhea associated with enterotoxigenic *Clostridium perfringens* infection in dogs. *J.A.V.M.A.*, 1989, **195**, 331-334.
- LABBE R.G., DUNCAN C.L. Sporulation and enterotoxin production by *Clostridium perfringens* type A under conditions of controlled pH and temperature. *Can. J. Microbiol.*, 1974, **20**, 1493-1501.
- LARSON H.E., BORRIELLO S.P. Infectious diarrhea due to *Clostridium perfringens*. *J. Inf. Dis.*, 1988, **157**, 390-391.
- LASKOWSKI M., KASSEL B., HAGERTY G. A crystalline trypsin inhibitor from swine colostrum. *Biochim. Biophys. Acta*, 1957, **24**, 300-305.
- LAWRENCE G., WALKER P.D. Pathogenesis of enteritis necroticans in papua New Guinea. *The lancet*, 1976, **17**, 125-126.
- LAWRENCE G., COOKE R. Experimental pigbel: the production and pathology of necrotizing enteritis due to *Clostridium welchii* type C in the guinea-pig. *Brit. J. Exp. Pathol.*, 1980, **61**, 261-271.
- LESBOUYRIES, BERTHELOIN. Entérotoxémie des ruminants. *Bull. Acad. Vet. de France*, 1937, **10**, 315-317.
- LINDSAY J.A. The effect of a *Clostridium perfringens* 8-6 enterotoxin on viability and macromolecular synthesis in Vero cells. *Bioch. Bioph. Res. Com.*, 1988, **151**, 1371-1377.
- LONG J.R. Necrotic enteritis in broiler chickens. I. A review of the literature and the prevalence of the disease in Ontario. *Can. J. Comp. Med.*, 1973, **37**, 302-308.
- LONG J.R., PETTIT J.R., BARNUM D.A. Necrotic enteritis in broiler chickens: II. Pathology and proposed pathogenesis. *Can. J. Comp. Med.*, 1974, **38**, 467-474.
- LONG J.R., TRUSCOTT R.B. Necrotic enteritis in broiler chickens: III. Reproduction of the disease. *Can. J. Comp. Med.*, 1976, **40**, 53-59.
- LOZANO E.A., CATLIN J.E., HAWKINS W.W. Incidence of *Clostridium perfringens* in neonatal enteritis of montana calves. *Cornell Vet.*, 1970, **60**, 347-359.
- MACLANE B.A., MACDONEL J.L. The effects of *Clostridium perfringens* enterotoxin on morphology, viability, and macromolecular synthesis in Vero cells. *J. Cell. Physiol.*, 1979, **99**, 191-200.
- MACLANE B.A., MACDONEL J.L. Characterization of membrane permeability alterations induced in Vero cells by *Clostridium perfringens* enterotoxin. *Bioch. Bioph. Acta*, 1980, **600**, 974-985.
- MACLANE B.A. Osmotic stabilizers differentially inhibit permeability alterations induced in Vero cells by *Clostridium perfringens* enterotoxin. *Bioch. Bioph. Acta*, 1984, **777**, 99-106.
- MACDONEL J.L., DUNCAN C.L. Histopathological effect of *Clostridium perfringens* enterotoxin in the rabbit ileum. *Infect. Immun.*, 1975, **12**, 1214-1218.
- MACDONEL J.L., DUNCAN C.L. Regional localization of *Clostridium perfringens* type A enterotoxin in the rabbit ileum, jejunum and duodenum. *J. Inf. Dis.*, 1977, **136**, 661-666.
- MACDONEL J.L., CHANG L.W., POUNDS J.G., DUNCAN C.L. The effects of *Clostridium perfringens* enterotoxin on rat and rabbit ileum. *Lab. Invest.*, 1978, **39**, 210-218.
- MACDONEL J.L. *Clostridium perfringens* toxins (type A, B, C, D, E). *Pharmac. Ther.*, 1980, **70**, 617-655.
- MACDONEL J.L., DEMERS G.W. *In vivo* effects of enterotoxin from *Clostridium perfringens* type A in the rabbit colon: binding vs. biologic activity. *J. Infect. Dis.*, 1982, **145**, 490-494.
- MACEWEN A.D. *Bacillus paludis*: a new species of pathogenic anaerobic bacterium. *J. Comp. Pathol.*, 1929, **43**, 1.
- MACGOWAN B., MOULTON J.E., ROOD S.E. Lamb losses associated with *Clostridium perfringens* type A. *J.A.V.M.A.*, 1958, **133**, 219-221.
- MACRAE D.R., MURRAY E.G. Enterotoxaemia in young suckled calves. *Vet. Rec.*, 1943, **55**, 203-204.
- MADDEN D.L., HORTON R.E., MACCULLOUGH N.B. Spontaneous infection in ex-germfree guinea pigs due to *Clostridium perfringens*. *Lab. Anim. Care*, 1970, **20**, 454-455.

- MAHONY D.E., GILLIAT E., DAWSON S., STOCKDALE E. Vero cell assay for rapid detection of *Clostridium perfringens* enterotoxin. *Appl. Env. Microbiol.*, 1989, **55**, 2141-2143.
- MANSSON I., OLHAGEN B. Intestinal *Clostridium perfringens* in arthritis and parakeratosis induced by dietary factors. Experimental studies in pigs. *Bull. Off. Int. Epiz.*, 1967, **67**, 1319-1328.
- MATISHECK P.H., MACGINLEY M. Colostral transfer of *Clostridium perfringens* type C beta antitoxin in swine. *Am. J. Vet. Res.*, 1986, **47**, 1132-1133.
- MATISHECK P.H., MACGINLEY M., KOONSE H.J. Combining protection against necrotic enteritis and TGE in a single vaccine for swine. *Vet. Med.*, 1986, **81**, 85-87.
- MESZAROS J., PESTI L., LOMNICZI B., JUHASZ S. Study of the role of clostridia in swine gastroenteritis. *Bull. Off. Int. Epiz.*, 1967, **67**, 1307-1318.
- MONTGOMERIE R.F., ROWLANDS W.T. Lamb dysentery in a foal. *Vet. Rec.*, 1937, **49**, 398-399.
- MONTGOMERIE R.F. *Clostridium perfringens*, *Clostridium welchii*, enterotoxaemia in the ruminant. *Can. Vet. J.*, 1961, **2**, 439-450.
- MOON H.W., DILLMAN R.C. Comments on clostridia and enteric diseases in swine. *J.A.V.M.A.*, 1972, **160**, 572-573.
- MORE R.W., GREENLEE H.H. Enterotoxaemia in chinchillas. *Lab. Anim.*, 1975, **9**, 153-154.
- MORIN M., PHANEUF J.B., MALO R. *Clostridium perfringens* type C enteritis in a Quebec swine herd. *Can. Vet. J.*, 1981, **98**, 496-499.
- MUMFORD D.H. Enterotoxaemia in cattle. *Aust. Vet. J.*, 1961, **37**, 122-126.
- MURREL T.G.C., EGERTON J.R., RAMPLING A., SAMELS J., WALKER P.D. The ecology and epidemiology of the pig-bel syndrome in man in New Guinea. *J. Hyg. Camb.*, 1966, **64**, 375-396.
- NABUURS M.J.A., HAAGSMA J., VAN DER MOLEN E.J., VAN DER HEIJDEN PH. J. Diarrhea in one to three week-old piglets associated with *Clostridium perfringens* type A. *Annales de Recherches Vétérinaires*, 1983, **14**, 408-411.
- NAIK H.S., MISRA D.S. Studies on the pathogenesis of *Clostridium perfringens* type A serotype, Hobbs 7 and 9. *Indian J. Anim. Sci.*, 1978, **48**, 42-47.
- NAIRN M.E., BAMFORD V.W. Necrotic enteritis in broiler chickens in Western Australia. *Aust. Vet. J.*, 1967, **43**, 49-54.
- NILO L., AVERY R.J. Bovine enterotoxaemia: I. *Clostridium perfringens* types isolated from animal sources in Alberta and Saskatchewan. *Can. Vet. J.*, 1963, **4**, 31-37.
- NILO L., RUTH E., MOFFAT E., AVERY R.J. Bovine enterotoxaemia: II. Experimental reproduction of the disease. *Can. Vet. J.*, 1963, **4**, 288-299.
- NILO L. Bovine enterotoxaemia: III. Factors affecting the stability of the toxins of *Clostridium perfringens* types A, C and D. *Can. Vet. J.*, 1965, **6**, 38-42.
- NILO L., DORWARD W.J. The effect of enterotoxigenic *Clostridium welchii*, *perfringens*, type A on bovine intestine. *Res. Vet. Sci.*, 1971, **12**, 376-378.
- NILO L., HAUSCHILD A.H.W., DORWARD W.J. Immunization of sheep against experimental *Clostridium perfringens* type A enteritis. *Can. J. Microbiol.*, 1971, **17**, 391-395.
- NILO L. Mechanism of action of the enteropathogenic factor of *Clostridium perfringens* type A. *Infect. Immun.*, 1971, **3**, 100-106.
- NILO L. Effect on calves of intravenous injection of the enterotoxin of *Clostridium welchii* type A. *J. Comp. Pathol.*, 1973, **83**, 265-269.
- NILO L. Response of ligated intestinal loops in chickens to the enterotoxin of *Clostridium perfringens*. *Appl. Microbiol.*, 1974, **28**, 889-891.
- NILO L., HARRIES W.N., JONES G.A. *Clostridium perfringens* type C in hemorrhagic enterotoxaemia of neonatal calves in Alberta. *Can. Vet. J.*, 1974, **15**, 224-226.
- NILO L. Measurement of biological activities of purified and crude enterotoxin of *Clostridium perfringens*. *Infect. Immun.*, 1975, **12**, 440-442.
- NILO L. The effect of enterotoxin of *Clostridium welchii*, *perfringens*, type A on fowls. *Res. Vet. Sci.*, 1976, **20**, 225-226.
- NILO L. Enterotoxigenic *Clostridium perfringens* type A isolated from intestinal contents of cattle, sheep and chickens. *Can. J. Comp. Med.*, 1978, **42**, 357-363.
- NILO L. *Clostridium perfringens* in animal disease: a review of current knowledge. *Can. Vet. J.*, 1980, **21**, 141-148.
- NILO L., BAINBOROUGH A.R. A survey of *Clostridium perfringens* enterotoxin antibody in human and animal sera in western Canada. *Can. J. Microbiol.*, 1980, **26**, 1162-1164.
- NILO L., CHALMERS G.A. Hemorrhagic enterotoxaemia caused by *Clostridium perfringens* type C in a foal. *Can. Vet. J.*, 1982, **23**, 299-301.
- NILO L., CHO H.J. Clinical and antibody responses to *Clostridium perfringens* type A enterotoxin in experimental sheep and calves. *Can. J. Comp. Med.*, 1985, **49**, 145-148.
- NILO L. Enterotoxemic *Clostridium perfringens*. In Pathogenesis of bacterial infections in animals. Edited by C.L. Gyles and C.O. Thoen, 1986 (a), Iowa State University, USA.
- NILO L. Experimental production of hemorrhagic enterotoxaemia by *Clostridium perfringens* type C in maturing lambs. *Can. J. Vet. Res.*, 1986 (b), **50**, 32-35.
- NILO L. Toxigenic characteristics of *Clostridium perfringens* type C in enterotoxaemia of domestic animals. *Can. J. Vet. Res.*, 1987, **51**, 224-228.
- ODENDAAL M.W., VISSER J.J., BOTHA W.J.S., PRINSLOO H. The passive protection of lambs against *Clostridium perfringens* type D with semi-purified hyperimmune serum. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 1988, **55**, 47-50.
- OKEWOLE P.A., ODEYEMI P.S., COLE T., ODUGBO M. Double intussusception fatally complicated by clostridial infection in a dog (a case report). *Brit. Vet. J.*, 1989, **145**, 291-292.
- OLUBUNMI P.A. Bacteria associated with inflammatory enteric lesions in pigs. PhD. thesis, 1982, University of Glasgow, Scotland.
- OLUBUNMI P.A., TAYLOR D.J. *Clostridium perfringens* type A in enteric diseases of pig. *Trop. Veterinarian*, 1985, **3**, 28-33.
- ONDERKA D.K., LANGEVIN C.C., HANSON J.A. Fibrosing cholehepatitis in broiler chickens induced by bile duct ligations or inoculation of *Clostridium perfringens*. *Can. J. Vet. Res.*, 1990, **54**, 285-290.
- OSTLE A.G., WELTER C.J. Using passive immunity to protect piglets from clostridial enterotoxaemia. *Vet. Med.*, 1987, **82**, 736-739.
- OXER D.T., MINTY D.W., LIEFMAN C.E. Vaccination trials in sheep with clostridial vaccines with special reference to passively acquired *Clostridium welchii* type D antitoxin in lambs. *Aust. Vet. J.*, 1971, **42**, 134-140.
- PARISH W.E. Necrotic enteritis in the fowl (*Gallus gallus domesticus*). I. Histopathology of the disease and isolation of a strain of *Clostridium welchii*. *J. Comp. Pathol.*, 1961, **71**, 377-393.
- PARNAS J. About the influence of beta-toxin of *Clostridium perfringens*, type C, on the motorics of intestine segments (*in vitro*): I. Communications. *Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig.* 1976, **A 234**, 243-246.
- PEARSON E.G., HEDSTROM O.R., SOON R., WEDAM J. Hemorrhagic enteritis caused by *Clostridium perfringens* type C in a foal. *J.A.V.M.A.*, 1986, **188**, 1309-1311.
- PEETERS J.E., GEEROMS R., CARMAN R.J., WILKINS T.D. Significance of *Clostridium spiroforme* in the enteritis-complex of commercial rabbits. *Vet. Microbiol.*, 1986, **12**, 25-31.
- POPOFF M. Entérotoxémie à *Clostridium perfringens* chez les ovins et glycosurie. *Bull. Soc. Vet. Prat. de France*, 1979, **63**, 431-448.
- POPOFF M.R., RADEFF J., MONDOLY P. Maladies infectieuses néonatales de l'agneau: Observation cliniques et bactériologiques. *Bull. Soc. Vet. Prat. de France*, 1982, **66**, 535-548.
- POPOFF M.R., JESTIN A. Enteropathogenicity of purified *Clostridium perfringens* enterotoxin in the pig. *Am. J. Vet. Res.*, 1985, **46**, 2147-2148.
- POPOFF M.R., LECOANET J. Botulinum type D toxin and *Clostridium perfringens* enterotoxin in a bull calf. *Vet. Rec.*, 1987, **121**, 591-592.
- PRESCOTT J.F., JOHNSON J.A., PATTERSON J.M. Haemorrhagic gastroenteritis in the dog associated with *Clostridium welchii*. *Vet. Rec.*, 1978, **103**, 116-117.

- PREVOT A.R., JACOTOT H., VALLEE A. Recrudescence des infections animales à *Welchia perfringens* A. *Bull. Acad. Vet.*, 1961, **34**, 267-275.
- PREVOT A.R., TURPIN A., KAISER P. *Welchia*. In Les bactéries anaérobies. Dunod, Paris, 1967, pp. 615-805.
- RAMISSE J., BREMENT A.M., POIRIER J.C., RABREAUD C., SIMONNET P. Flore microbienne isolée au cours de diarrhées néonatales mortelles chez le veau, l'agneau et le porcelet. *Rev. Med. Vet.*, 1979, **130**, 111-122.
- REHG J.R., PAKES S.P. Implication of *Clostridium difficile* and *Clostridium perfringens* iota-toxins in experimental lincomycin-associated colitis of rabbits. *Lab. Anim. Sci.*, 1982, **32**, 253-257.
- REID J.F.S. The common diarrhoeas of sheep in Britain. *Vet. Rec.*, 1976, **98**, 496-499.
- RIPLEY P.H. Immunisation schedule for the prevention of infectious necrotic enteritis caused by *Clostridium perfringens* type C in piglets. *Vet. Rec.*, 1983, **112**, 201-202.
- ROBERTS T.A. Heat and radiation resistance and activation of spores of *Clostridium welchii*. *J. Appl. Bacteriol.*, 1968, **31**, 133-144.
- ROBINSON A., MANSER P.A. Mastitis in a heifer caused by *Clostridium welchii* type A. *Vet. Rec.*, 1977, **101**, 37.
- ROEDER B.L., CHENGAPPA M.M., NAGARAJA T.G., AVERY T. Isolation of *Clostridium perfringens* from neonatal calves with ruminal and abomasal tympany, abomasitis, and abomasal ulceration. *J.A.V.M.A.*, 1987, **190**, 1550-1555.
- ROKOS E.A., ROOD J.I., DUNCAN C.L. Multiple plasmids in different toxigenic types of *Clostridium perfringens*. *FEMS Microbiol. Lett.*, 1978, **4**, 323-326.
- ROOD J.I., COLE S.T. Molecular genetics and pathogenesis of *Clostridium perfringens*. *Microbiol. Reviews*, 1991, **55**, in press.
- ROSE A.L., EDGAR G. Enterotoxaemic jaundice of sheep and cattle. *Aust. Vet. J.*, 1936, **36**, 212-220.
- ROSS H.E., WARREN M.E., BARNES J.M. *Clostridium welchii* iota toxin: Its activation by trypsin. *J. Gen. Microbiol.*, 1949, **8**, 148-152.
- RUSSELL W.C. Type A enterotoxemia in captive wild goats. *J.A.V.M.A.*, 1970, **157**, 643-646.
- SAKURAI J., DUNCAN C.L. Some properties of beta-toxin produced by *Clostridium perfringens* type C. *Infect. Immun.*, 1978, **21**, 678-680.
- SCHOFIELD D.V., FRANK W. Enterotoxaemia in calves due to *Clostridium welchii*. *J.A.V.M.A.*, 1955, **126**, 192-194.
- SECASIU V. Diagnostical bacteriologic welchiozei porcine (enterotoxiemia anaeroba). *Revista de cresteria animalelor*, 1984, **2**, 38-45.
- SHANE S.M., GYIMAH J.E., HARRINGTON K.S., SNIDER T.G. Etiology and pathogenesis of necrotic enteritis. *Vet. Res. Comm.* 1985, **9**, 269-287.
- SHIRAHATA T., SHIMIZU K., YOSHIDA T., GOTO H., MIYAKE M., ONO H. A case of bovine gangrenous mastitis caused by *Clostridium perfringens* type A. *J. Jp. Vet. Med. Ass.*, 1969, **22**, 215-217.
- SHIRLEY G.N. Clostridial enteritis in cattle. *Vet. Rec.*, 1958, **70**, 478-480.
- SIGURDARSON S., THORSTEINSSON T. Sudden death of Icelandic dairy cattle. *Vet. Rec.*, 1990, **126**, 517.
- SIMPSON L.L., STILES B.G., ZEPEDA H.H., WILKINS T.D. Molecular basis for the pathological actions of *Clostridium perfringens* iota toxin. *Infect. Immun.*, 1987, **55**, 118-122.
- SIMS L.D., TZIPORI S., HAZARD G.H., CARROLL C.L. Haemorrhagic necrotising enteritis in foals associated with *Clostridium perfringens*. *Aust. Vet. J.*, 1985, **62**, 194-196.
- SKJELKVALE R., DUNCAN C.L. Enterotoxin formation by different toxigenic types of *Clostridium perfringens*. *Infect. Immun.*, 1975, **11**, 563-575.
- SKJELKVALE R., UEMURA T. Experimental diarrhoea in human volunteers following oral administration of *Clostridium perfringens* enterotoxin. *J. Appl. Bacteriol.*, 1977, **43**, 281-286.
- SMITH H.W., CRABB W.E. The faecal bacterial flora of animals and man: Its development in the young. *J. Pathol. Bacteriol.*, 1961, **82**, 53-66.
- SMITH H.W., JONES J.E.T. Observations on the alimentary tract and its bacterial flora in healthy and diseased pigs. *J. Pathol. Bacteriol.*, 1963, **86**, 387-412.
- SMITH L.D.S., MARSH H. The immunization of young lambs against enterotoxaemia. *Am. J. Vet. Res.*, 1953, **14**, 408-410.
- SMITH L.D.S. In The pathogenic anaerobic bacteria. 2nd Ed. Charles C. Thomas. Springfield, I.L., 1975, pp. 115-176.
- STARK R.L., DUNCAN C.L. Biological characteristics of *Clostridium perfringens* type A enterotoxin. *Infect. Immun.*, 1971, **4**, 89-96.
- STARK R.L., DUNCAN C.L. Transient increase in capillary permeability induced by *Clostridium perfringens* type A enterotoxemia. *Infect. Immun.*, 1972, **5**, 147-150.
- STELMA G.N., CRAWFORD R.G., SPAULDING P.L., TXEDT R.M. Evidence that *Clostridium perfringens* produces only one enterotoxin. *J. Food Prot.*, 1985, **48**, 232-233.
- STERNE M., BATTY I., THOMPSON A., ROBERTSON J.M. Immunization of sheep with multicomponent clostridial vaccines. *Vet. Rec.*, 1962, **74**, 909-913.
- STERNE M., BATTY I. In Pathogenic clostridia. Butterworths, London and Boston, 1975, pp. 22-26.
- STERNE M. Clostridial infections. *Brit. Vet. J.*, 1981, **137**, 443-454.
- STEVENS A.J. Enterotoxaemia. *Vet. Rec.*, 1959, **71**, 692-696.
- STILES B.G., WILKINS T.D. Purification and characterization of *Clostridium perfringens* iota-toxin: Dependence on two nonlinked proteins for biological activity. *Infect. Immun.*, 1986, **54**, 683-688.
- STRINGER M.F., TURNBULL P.C.B., GILBERT R.J. Application of serological typing to the investigation of outbreak of *Clostridium perfringens* food poisoning, 1970-1978. *J. Hyg.*, 1980, **84**, 443-456.
- STRONG D.H., DUNCAN C.L., PERNA G. *Clostridium perfringens* type A food poisoning. II. Response of the rabbits ileum as an identification of enteropathogenicity of strains of *Clostridium perfringens* in human beings. *Infect. Immun.*, 1971, **3**, 171-178.
- STUBBINGS D.P. *Clostridium perfringens* enterotoxaemia in two young horses. *Vet. Rec.*, 1990, **127**, 431.
- STUTZ M.W., JOHNSON S.L., JUDITH F.R., MUIR L.A. Effect of the antibiotic thiopeptin on *Clostridium perfringens* and growth and feed efficiency of broiler chicks. *Poultry Sci.*, 1983, **62**, 1633-1638.
- STUTZ M.W., LAWTON G.C. Effects of diet and antimicrobials on growth, feed efficiency, intestinal *Clostridium perfringens*, and ileal weight of broiler chicks. *Poultry Sci.*, 1984, **63**, 2036-2042.
- SUGII S., HORIGUCHI Y., UEMURA T. Hemagglutinating activity of trypsinized *Clostridium perfringens* enterotoxin. *FEMS Microbiol. Lett.*, 1986, **34**, 205-209.
- SUGII S., HORIGUCHI Y. Identification and isolation of the binding substance for *Clostridium perfringens* enterotoxin on Vero cells. *FEMS Microbiol. Lett.*, 1988, **52**, 85-90.
- TAYLOR A.W., STEWART J. The toxins produced by *Clostridium welchii* in a simple medium. *J. Pathol. Bacteriol.*, 1941, **33**, 87-94.
- THOMPSON J.J., LIARDET D.M. Antigenic response in cattle to *Clostridium welchii* type D vaccine. *NZ Vet. J.*, 1966, **34**, 126-127.
- THOMSON A., BATTY I. The antigenic efficiency of pulpy kidney disease vaccines. *Vet. Rec.*, 1958, **65**, 659-663.
- TIMMS L. Observations on the bacterial flora of the alimentary tract in three age groups of normal chickens. *Brit. Vet. J.*, 1968, **124**, 470-476.
- TOLLESHAUG H., SKJELKVALE R., BERG T. Quantitation of binding and subcellular distribution of *Clostridium perfringens* enterotoxin in rat liver cells. *Infect. Immun.*, 1982, **37**, 486-491.
- TWEDT D.C., JONES R.L., COLLINS J.K., OGILVIE G. *Clostridium perfringens* enterotoxin associated with diarrhea in dogs. *J. Vet. Internal Medicine*, 1988, **3**, 134.
- UEMURA T., SKJELKVALE R. An enterotoxin produced by *Clostridium perfringens* type D: Purification by affinity chromatography. *Acta Pathol. Microbiol. Imm. Scand. Sect. B*, 1976, **84**, 414-420.
- VAISSAIRE J., VIGOUROUX A., SALINGARDES F., SEBALD M. Entérite nécrosante à *Clostridium perfringens* de type C chez le porc. *Bull. Acad. Vet. Fr.*, 1983, **56**, 401-406.
- VAN DAMME-JONGSTEN M., RODHOUSE J., GILBERT R.J., NOTERMANS S. Synthetic DNA probes for detection of enterotoxigenic *Clostridium perfringens* strains isolated from food borne disease outbreaks. *J. Clin. Microbiol.*, 1990, **28**, 131-133.

- VAN DAMME-JONGSTEN M., HAAGSMA J., NOTERMANS S. Testing of *Clostridium perfringens* Type A strains isolated from piglets with diarrhea for the presence of the enterotoxin gene. *Vet. Rec.*, 1990, **126**, 191-192.
- VAN KESSEL L.J.P., VERBRUGH H.A., STRINGER M.F., HOEKSTRA J.B.L. Necrotizing enteritis associated with toxigenic type A *Clostridium perfringens*. *J. Inf. Dis.*, 1985, **151**, 974-975.
- VANCE H.N. *Clostridium perfringens* as a pathogen of cattle: A literature review. *Can. J. Comp. Med. Vet. Sc.*, 1967 (a), **31**, 248-251.
- VANCE H.N. A survey of the alimentary tract of cattle for *Clostridium perfringens*. *Can. J. Comp. Med.*, 1967 (b), **31**, 260-265.
- WALKER P.D., MURRELL T.G.C., NAGYL K. Scanning electronmicroscopy of the jejunum in enteritis necroticans. *J. Med. Microbiol.*, 1980, **13**, 445-450.
- WEBSTER A.C., FRANK C.L. Comparison of immune response stimulated in sheep, rabbits and guinea pigs by the administration of multicomponent clostridial vaccines. *Aust. Vet. J.*, 1985, **62**, 112-114.
- WELLCOME. Un vaccin humain contre *Clostridium welchii* C. *Wellcome Europe Informations*, 1980, **ETE**, 1.
- WIERUP M. Equine intestinal clostridiosis. *Acta Vet. Scand.*, 1977, **Suppl. 62**, 1-181.
- WIERUP M., DIPIETRO J.A. Bacteriologic examination of equine fecal flora as a diagnostic tool for equine intestinal clostridiosis. *Am. J. Vet. Res.*, 1981, **42**, 2167-2169.
- WILDSON A.J. Observations on the classification of *Bacillus welchii*. *2nd Rep. Dir. Inst. Anim. Pathol., Cambridge*, 1931, p. 51.
- WILLIAMS B.M. Clostridial myositis in cattle: Bacteriology and gross pathology. *Vet. Rec.*, 1977, **100**, 90-91.
- WILLIS A.T., PHILLIPS K.D. Botulism, *Clostridium perfringens* food poisoning, pig-bel. In *Anaerobic Infections. Clinical and laboratory practice*. Public Health Laboratory Service, 1988, London, UK, pp. 52-58.
- WNEK A.P., MACLANE B.A. Identification of 50,000 MR protein from rabbit brush border membranes that binds *Clostridium perfringens* enterotoxin. *Bioch. Bioph. Res. Com.*, 1983, **112**, 1099-1105.
- WNEK A.P., MACLANE B.A. Comparison of receptors for *Clostridium perfringens* type A and cholera enterotoxins in isolated rabbit intestinal brush border membranes. *Microbial pathogenesis*, 1986, **1**, 89-100.
- WOBESER G., RAINNIE D.J. Epizootic necrotic enteritis in wild geese. *J. Wildlife Dis.*, 1987, **23**, 376-385.
- WORRALL E.E., NATALIA L., RONOARDIO P., PARTOUTOM S., TARMUDJI. Enterotoxaemia in water buffaloes caused by *Clostridium perfringens* type A. *Vet. Rec.*, 1987, **121**, 278-279.
- WORTHINGTON R.W., BERTSCHINGER H.J., MULDER S.M.S. Catecholamine and cyclic nucleotide response of sheep to the injection of *Clostridium welchii* type D epsilon toxin. *J. Med. Microbiol.*, 1979, **12**, 497-502.
- YALCIN N., GANE P., DELAHAYE J., MITTON A. Rôle pathogène d'*E. coli* et de *Welchia* dans la mortalité du veau; leur sensibilité aux ATB. *Rec. Med. Vet.*, 1969, **145**, 361-368.
- YAMAMOTO K., OHISHI I., SAKAGUCHI G. Fluid accumulation in mouse ligated intestine inoculated with *Clostridium perfringens* enterotoxin. *Appl. Env. Microbiol.*, 1979, **37**, 181-186.
- YONUSHONIS W., ROY M.J., CARMAN R.J., SIMS R.E. Diagnosis of spontaneous *Clostridium spiroforme* iota enterotoxemia in a barrier rabbit breeding colony. *Lab. Anim. Sci.*, 1987, **37**, 69-71.