

Bulletin épidémiologique Santé animale - alimentation

Epub Novembre 2020

Botulisme bovin : importance de la biosécurité pour prévenir les contaminations croisées avec les ateliers de volailles

Bovine botulism: importance of biosecurity measures to prevent cross-contaminations with poultry

Caroline Le Maréchal⁽¹⁾, Rozenn Souillard⁽²⁾, Yann Villaggi⁽³⁾, Grégoire Kuntz⁽⁴⁾, Sophie Le Bouquin⁽²⁾, Aline Scalabrino⁽⁵⁾, Khadija Ayadi-Akrout⁽⁶⁾, Félix Mahé⁽⁴⁾, Sophie Thomas⁽⁷⁾, Marianne Chemaly⁽¹⁾, Séverine Rautureau⁽⁶⁾

Auteur correspondant : Caroline.lemarechal@anses.fr

(1) Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, Unité hygiène et qualité des produits avicoles et porcins, Ploufragan, France

(2) Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, Unité épidémiologie, santé et bien-être, Ploufragan, France

(3) Direction départementale de la protection des populations des Côtes d'Armor, Ploufragan, France

(4) Groupement de Défense Sanitaire Bretagne, Ploufragan, France

(5) Direction départementale de la protection des populations du Finistère, Quimper, France

(6) Mission des Urgences Sanitaires, Direction générale de l'alimentation, Paris, France

(7) Direction départementale de la cohésion sociale et de la protection des populations de l'Ille et Vilaine, Rennes, France

Mots clés : botulisme bovin, contamination croisée, volaille / Keywords: bovine botulism, cross-contamination, poultry

Le botulisme animal se manifeste par une paralysie flasque ascendante due à l'action de la toxine botulique qui empêche la transmission du message nerveux. Cette toxine est principalement produite par la bactérie *Clostridium botulinum*, les types toxiques impliqués dans les foyers de botulisme animal étant majoritairement les types C, D, C/D et D/C. Le botulisme en France concerne principalement les volailles, l'avifaune sauvage et les bovins. Les épisodes de botulisme se traduisent en général par des taux de mortalité qui peuvent être importants (entre 2,8 % et

35,2 % chez les volailles (Souillard et al. 2014) et jusqu'à plus de 70 % chez les bovins (Le Maréchal et al. 2019, Relun et al. 2017)), associés à des pertes économiques directes et indirectes conséquentes. Le botulisme est un danger sanitaire de première catégorie pour toutes les espèces sensibles et donc à déclaration obligatoire. Les cas sont actuellement confirmés par le Laboratoire National de Référence (LNR) en collaboration avec le LABOCEA de Ploufragan ou le Centre National de Référence (CNR).



Mise en évidence d'un nombre élevé de contaminations croisées entre ateliers de volailles et élevages bovins en 2020 dans le Grand-Ouest

Augmentation des foyers de botulisme bovin en 2020

Une augmentation du nombre de foyers confirmés de botulisme bovin par le LNR et le LABOCEA a été observée sur la période mai-juillet 2020 dans des élevages situés dans les régions Bretagne, Pays de la Loire et Poitou-Charentes (cf. tableau 1). En effet, un total de douze foyers a été confirmé sur une période de dix semaines alors qu'en moyenne une dizaine de foyers sont confirmés chaque année en France par l'ensemble des laboratoires. *C. botulinum* de type D/C a été détecté dans les douze foyers via l'analyse de prélèvements de foie, contenus du rumen ou fèces, par PCR en temps réel après une étape d'enrichissement.

Investigations complémentaires en vue de l'identification de la source de contamination

Pour certains foyers, des investigations complémentaires notamment via la collecte d'échantillons d'environnement par les vétérinaires sanitaires, les DDPP ou le GDS du département ou de la région concernée ont pu être menées. Ces analyses ont permis de mettre en évidence *C. botulinum* de type D/C dans un atelier de volaille à proximité de sept foyers de bovins sur les 8 où des investigations ont pu être menées (au sein du même élevage ou dans le voisinage). Aucune mortalité anormale n'a été notifiée dans ces ateliers volailles.

Par exemple, pour le foyer 1, les signes cliniques sont apparus chez les bovins quelques jours après le départ à l'abattoir des poulets de chair. Les échantillons de fumier provenant de ce lot de poulets (5 positifs sur 5), les prélèvements effectués aux abords du bâtiment, au niveau des circuits de ventilation et du bac d'équarrissage de l'atelier de volailles ont permis de détecter *C. botulinum* de type D/C.

Dans le cas du foyer 3, les échantillons de fumier du lot de poulets de chair qui a précédé l'épisode étaient positifs pour *C. botulinum* type D/C (2 positifs sur 2), ainsi que le bac d'équarrissage et des écouillons cloacaux (4 positifs sur 19) prélevés sur des poulets du lot en place au moment de l'épisode de botulisme bovin.

Tableau 1. Récapitulatif des foyers de botulisme bovin confirmés entre mai et juillet 2020

N° d'élevage	Date confirmation laboratoire	Toxine	Mortalité (Nb d'animaux)	Matrices positives* (diagnostic)	Atelier volaille investigué	Localisation atelier volaille	Résultats investigation atelier volaille *
1	20/05/2020	D/C	5	Foie, Rumen, Fèces	Poulets de chair	Élevage mixte	Positif en D/C (dont fumier)
2	29/05/2020	D/C	5	Foie, Fèces	Pas mis en évidence	/	/
3	28/05/2020	D/C	12	Foie, Rumen, Fèces	Poulets de chair	Élevage mixte	Positif en D/C (dont fumier)
4	29/05/2020	D/C	1	Fèces	Poulets de chair	Voisinage	Positif en D/C (dont fumier)
5	29/05/2020	D/C	2 vaches (+1 rétabli)	Rumen	Pas mis en évidence	/	/
6	05/06/2020	D/C	Information non disponible	Foie, Rumen, Fèces	Poulets de chair	Élevage mixte	Positif en D/C (dont fumier)
7	11/06/2020	D/C	2	Fèces	Poulets de chair	Voisinage	Positif en D/C (dont fumier)
8	07/07/2020	D/C	Information non disponible	Rumen	Volaille	Élevage mixte	Pas d'échantillon
9	09/07/2020	D/C	Chèvres : 2 (+2 rétablies) Moutons : 3 (+5 rétablis) Vaches : 0 (+4 rétablies)	Fèces des bovins (autres espèces non analysées)	Volaille	Élevage mixte	Positif en D/C
10	16/07/2020	D/C	5	Fèces	Information non disponible	Voisinage	Fumier de volaille : résultats Négatifs
11	30/07/2020	D/C	Information non disponible	Foie, Rumen	Volaille	Élevage mixte	Positif en D/C
12	30/07/2020	D/C	Information non disponible	Foie, Rumen, Fèces	Information non disponible	/	/

* Le nombre d'échantillons et la nature varient d'un foyer à l'autre. La détection de *C. botulinum* de type C, D, C/D et D/C a été réalisée par PCR en temps réel après une étape d'enrichissement selon les méthodes décrites dans (Le Maréchal *et al.* 2019).

Discussion

Les fumiers de volaille : un réservoir de souches de *C. botulinum* de type D/C (type toxinique responsable du botulisme bovin)

Deux sources majeures à l'origine des épisodes de botulisme bovin sont décrites dans la littérature : la présence d'un cadavre dans un des composants de la ration (Le Maréchal *et al.* 2019, Myllykoski *et al.* 2009) ou la présence de fumier de volaille ou d'un atelier de volaille à proximité des bovins (Souillard *et al.* 2017, Payne *et al.* 2011a, Popoff 1989, Relun *et al.* 2017). Il a par exemple été estimé que près de 90 % des épisodes de botulisme bovin survenus au Royaume-Uni entre 2001 et 2009 étaient liés à du fumier de volaille (via une exposition directe après épandage dans les pâtures, via

l'utilisation du fumier de volailles comme litière ou via la proximité du fumier de volaille) (Payne *et al.* 2011b).

Les cas de botulisme cliniques de type D ou D/C sont très peu fréquents en élevages de volaille en Europe (Le Marechal *et al.* 2016, Woudstra *et al.* 2012), en particulier chez les poulets de chair où seuls des épisodes de type C/D sont détectés (Le Gratiot *et al.* 2020). Des cas cliniques de type D et D/C ne sont détectés sporadiquement qu'en élevage de dindes (Le Gratiot *et al.* 2020). Certains auteurs rapportent que les volailles sont résistantes à la toxine D (Popoff et Argente 1996). La présence de *C. botulinum* de type D ou D/C dans un élevage de volailles peut donc passer inaperçue et constituer un facteur de risque pour les bovins qui sont eux extrêmement sensibles aux types D et D/C (Nakamura *et al.* 2012).

La prévalence de portage asymptomatique de *C. botulinum* par les volailles ainsi que les facteurs propices à ce portage sont inconnus (Hardy et Kaldhusdal 2013). L'hypothèse d'un portage à un faible niveau, en limite de détection des méthodes actuellement disponibles a été émise (Popoff 1989), ce qui expliquerait la difficulté à évaluer cette prévalence dans les études menées jusqu'à présent (Hardy et Kaldhusdal 2013). Bien que la prévalence exacte ne soit pas établie, les volailles sont considérées comme un réservoir et une source d'amplification de *C. botulinum* de type D et de sa toxine (Popoff et Argente 1996). Le rôle de réservoir joué par les volailles a été démontré dans une étude de cas pour *C. botulinum* de type D/C (Souillard *et al.* 2017). Les résultats des écouvillons cloacaux présentés ici confirment également que le portage de *C. botulinum* de type D/C peut exister de manière asymptomatique chez les poulets de chair, pouvant aboutir à une contamination de la litière et de l'environnement du bâtiment d'élevage et de ses abords. Par ailleurs, les cadavres sont un substrat favorable à la croissance de *C. botulinum*. Les épisodes de mortalités au niveau d'un atelier volaille quel qu'en soit l'origine constituent un facteur de risque majeur de multiplication de la bactérie et de production de toxines botuliques. Une bonne gestion des cadavres et de la litière où les cadavres ont pu séjourner est donc indispensable pour prévenir les contaminations des bovins.

Les facteurs à l'origine de l'augmentation du nombre de foyers bovins détectés sur la période de mai à juillet 2020 dans le Grand Ouest de la France n'ont pas été identifiés. Certaines hypothèses peuvent être proposées : augmentation de la prévalence de portage dans les ateliers volailles, Conditions climatiques favorables à une dissémination des spores, autres facteurs ? Plusieurs départements du Grand Ouest et divers organismes de production ont été concernés par ces épisodes, ne permettant pas la mise en évidence d'un point commun pouvant expliquer ce portage observée dans les ateliers de volaille (couvoir, aliment, personnel...). Par ailleurs, bien que des progrès aient été faits ces dernières années que ce soit au niveau de l'isolement des souches (Le Gratiot *et al.* 2020) ou du développement des outils de typage (Le Maréchal *et al.* 2020), aucune méthode simple et rapide n'est actuellement disponible pour permettre la comparaison génétique des souches impliquées dans les foyers. Disposer de telles approches permettraient de comparer les échantillons et souches de façon à mettre en évidence d'éventuels liens entre les épisodes, d'investiguer les sources de contamination et plus globalement de tracer les souches de *C. botulinum*.

Prévention des contaminations croisées entre ateliers

La mise en place de mesures de biosécurité appropriées entre les ateliers volailles et bovins est indispensable pour prévenir les épisodes de botulisme bovin. Différents modes de contamination entre ces deux ateliers peuvent en effet être envisagés : via le matériel ou les véhicules (lors de la manipulation de fumier contaminé par exemple), via la tenue (bottes en particulier), via le transfert d'un cadavre de volaille (pouvant être présent dans la litière et accessible après le départ des volailles si la bâtiment n'est pas fermé) par le chien de l'élevage depuis l'atelier volailles vers les aliments des bovins (ensilage par exemple), via l'eau de ruissellement, via l'épandage du fumier sur les pâtures (facteur de risque de contamination majeur mis en évidence dès les années 80 (Popoff et Argente 1996)), par voie aéroportée (par le vent lors d'un épandage de fumier de volaille par exemple (Popoff et Argente 1996)). Les recommandations prennent en compte l'ensemble des barrières sanitaires entre les deux productions (prévues par l'arrêté ministériel du 8 février 2016 relatif aux mesures de biosécurité applicables dans les exploitations de volailles) pour prévenir les épisodes en lien avec les élevages de volailles : le changement de tenue et de chaussures entre ateliers dans les exploitations mixtes, l'utilisation de matériel spécifique à chaque atelier dans la mesure du possible ou *a minima* sa décontamination renforcée entre deux utilisations, la proscription de l'épandage et du stockage de fumier de volailles à proximité de zones fréquentées par des bovins. Il est à noter que des contaminations croisées des bovins vers les volailles ont également été décrites (Souillard *et al.* 2015), même s'il semble que cela ne soit pas rapporté de manière fréquente dans la littérature.

D'une manière générale, la mise en place de barrières sanitaires entre les productions avicoles et bovines est essentielle pour prévenir tout risque de contamination-croisées volailles/bovins ou bovins/volailles quel que soit l'agent pathogène considéré, en particulier dans les élevages mixtes.

Remerciements

Les auteurs remercient les éleveurs et vétérinaires pour leur participation à l'étude, les techniciennes du LNR botulisme aviaire (Sandra Rouxel, Typhaine Poezevara, Amandine Avouac, Emmanuelle Houard) et le LABOCEA de Ploufragan pour les analyses. Cette étude a reçu un soutien financier de la part de l'Anses, de France AgriMer (projet BOTUSOL) et du conseil départemental des Côtes d'Armor.

Références bibliographiques

- Hardy, S. P., Kaldhusdal, M. 2013. «Type C et C/D toxigenic Clostridium botulinum is not normally present in the intestine of healthy broilers.» *Veterinary Microbiology* 165 (3-4):466-468.
- Le Gratiot, T., Poezevara, T., Rouxel, S., Houard, E., Mazuet, C., Chemaly, M., Le Maréchal, C. 2020. «Development of An Innovative et Quick Method for the Isolation of Clostridium botulinum Strains Involved in Avian Botulism Outbreaks.» *Toxins (Basel)* 12 (42). doi:10.3390/toxins12010042.
- Le Maréchal, C., Annibaldi, F., Bano, L., Tevell Aberg, A., Lindstrom, M., Dorner, M. B., Hedeland, M., Seyboldt, C., Koene, M., Bilei, S., Dermam, Y., Chemaly, M. 2020. «Workshop on the risks associated with animal botulism et ANIBOTNET final meeting.» *Euroreference* 4 February 2020:33-41.
- Le Marechal, C., Ballan V., Rouxel S., Bayon-Auboyer M. H., M. A. Baudouard, H. Morvan, E. Houard, T. Poezevara, R. Souillard, C. Woudstra, S. Le Bouquin, P. Fach, and M. Chemaly. 2016. «Livers provide a reliable matrix for real-time PCR confirmation of avian botulism.» *Anaerobe* 38:7-13. doi: 10.1016/j.anaerobe.2015.10.014.
- Le Maréchal, C., Hulin, O., Macé, S., Chuzeville, C., Rouxel, S., Poezevara, T., Mazuet, C., Pozet, F., Sellal, E., Martin, L., Viry, A., Rubbens, C., Chemaly, M.. 2019. «A Case Report of a Botulism Outbreak in Beef Cattle Due to the Contamination of Wheat by a Roaming Cat Carcass: From the Suspicion to the Management of the Outbreak.» *Animals* 9(12) 1025. doi: https://doi.org/10.3390/ani9121025.
- Myllykoski, J., Lindström, M., Keto-Timonen, R., Söderholm, H., Jakala, J., Kallio, H., Sukura, A., Korkeala, H. 2009. «Type C bovine botulism outbreak due to carcass contaminated non-acidified silage.» *Epidemiology et Infection* 137 (2):284-293.
- Nakamura, K., Kohda, T., Shibata, Y., Tsukamoto, K., Arimitsu, H., Hayashi, M., Mukamoto, M., Sasakawa, N. Kozaki S. 2012. «Unique biological activity of botulinum D/C mosaic neurotoxin in murine species.» *Infection et Immunity* 80 (8):2886-2893.
- Payne, J. H., Hogg, R. A., Otter, A., Roest, H. I. J., Livesey C. T. 2011a. «Emergence of suspected type D botulism in ruminants in England et Wales (2001 to 2009), associated with exposure to broiler litter.» *Veterinary Record* 168 (24):640.
- Payne, J. H., Hogg, R. A., Otter, A., Roest, H. I., Livesey C. T. 2011b. «Emergence of suspected type D botulism in ruminants in England et Wales (2001 to 2009), associated with exposure to broiler litter.» *Vet Rec* 168 (24):640. doi: vr.d1846 [pii] 10.1136/vr.d1846 [doi].
- Popoff, M. 1989. «Revue sur l'épidémiologie du botulisme bovin en France et analyse de sa relation avec les élevages de volailles.» *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 8 (1):129-145.
- Popoff, M.R., Argente G. 1996. «Le botulisme animal est-il une menace pour l'homme ?» *Bull. Acad. Vét. de France* 69:373-382.
- Relun, A., Dorso, L., Douart, A., Chartier, C., Guatteo, R., Mazuet, C., Popoff, M. R., Assie S. 2017. «A large outbreak of bovine botulism possibly linked to a massive contamination of grass silage by type D/C Clostridium botulinum spores on a farm with dairy et poultry operations.» *Epidemiol Infect.* 1-9. doi: 10.1017/S0950268817002382.
- Souillard, R., Le Marechal, C., Ballan, V., Mahe, F., Chemaly, M., Le Bouquin S. 2017. «A bovine botulism outbreak associated with a suspected cross-contamination from a poultry farm.» *Vet Microbiol* 208:212-216. doi: 10.1016/j.vetmic.2017.07.022.

Souillard, R., Le Maréchal, C., Hollebecque, F., Rouxel, S., Barbé, A., Houard, E., Léon, D., Poëzévara, T., Fach, P., Woudstra, C., Mahé, F., Chemaly, M., Le Bouquin S. 2015. «Occurrence of *C. botulinum* in healthy cattle et their environment following poultry botulism outbreaks in mixed farms.» *Vet Microbiol* 180 (1-2):142-5. doi: 10.1016/j.vetmic.2015.07.032.

Souillard, R., Woudstra, C., Le Marechal, C., Dia, M., Bayon-Auboyer, M. H., Chemaly, M., Fach, P., Le Bouquin S. 2014. «Investigation of *Clostridium botulinum* in commercial poultry farms in France between 2011 et 2013.» *Avian Pathol* 43 (5):458-64. doi: 10.1080/03079457.2014.957644.

Woudstra, C., Skarin H., Anniballi F., Fenicia L., Bano L., Drigo I., Koene M., Bayon -Auboyer M. H., Buffereau J. P., De Medici D., and Fach P. 2012. «Neurotoxin gene profiling of *Clostridium botulinum* types C et D native to different countries within Europe.» *Appl Environ Microbiol* 78 (9):3120-7. doi: AEM.07568-11 [pii] 10.1128/AEM.07568-11 [doi].

Directeur de publication : Roger Genet
Directeur associé : Bruno Ferreira
Directrice de rédaction : Emilie Gay
Rédacteur en chef : Julien Cauchard
Rédacteurs adjoints : Hélène Amar, Jean-Philippe Amat, Céline Dupuy, Viviane Hénaux, Renaud Lailler, Yves Lambert

Comité de rédaction : Anne Brisabois, Benoit Durand, Françoise Gauchard, Guillaume Gerbier, Marion Laurent, Sophie Le Bouquin Leneveu, Elisabeth Repérant, Céline Richomme, Jackie Tapprest, Sylvain Traynard
Secrétaire de rédaction : Isabelle Stubljar
Responsable d'édition : Fabrice Coutureau

Assistante d'édition : Elsa Vidal
Anses - www.anses.fr
14 rue Pierre et Marie Curie
94701 Maisons-Alfort Cedex
Courriel : bulletin.epidemie@anses.fr
Conception et réalisation : Parimage
Crédits photos : Anses, AdobeStock



**MINISTÈRE
DE L'AGRICULTURE
ET DE L'ALIMENTATION**

*Liberté
Égalité
Fraternité*



agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail

Connaître, évaluer, protéger