

AUTEURS:**DORCHIES . B** /vétérinaire praticien– GTV Bretagne**LEZE.V** /coordinatrice OVVT Bretagne

Botulisme

Le botulisme est une affection neurologique grave due aux **neurotoxines botuliques synthétisées pendant la phase exponentielle de croissance par les bactéries anaérobies strictes et sporulées du groupe des Clostridium botulinum**. Cette affection commune à l'homme et aux animaux reste rare chez l'homme (22 foyers/45 cas entre 2007 et 2009 ¹) mais est beaucoup plus fréquente en élevage (avicole et ruminants). En 2017 (source DGAL), 20 foyers ont été recensés en France (11 bovins, 9 volailles) dont la grande majorité ont détectés suite à des suspicions cliniques. En ce qui concerne la Bretagne, 15 cas ont été recensés (4 bovins et 11 aviaires) entre 2010 à 2016 (avant confirmation et envoi systématique des confirmations de cas par l'ANSES). La gravité de cette pathologie ainsi que ses répercussions économiques dans les élevages touchés doivent nous pousser à la plus extrême vigilance.

Le botulisme est classé en France comme danger sanitaire de 1ère catégorie chez toutes les espèces sensibles⁶

1- AGENT RESPONSABLE DU BOTULISME

Le botulisme est causé par la production de neurotoxines par des bactéries du groupe **Clostridium botulinum**⁹.

Il existe **7 toxinotypes** (A à G) avec des pouvoirs pathogènes et des sensibilités d'espèce différents. Le botulisme humain est principalement causé par les toxinotypes A B ou E (exceptionnellement C ou F). Les **toxinotypes C et D sont plus fréquemment isolés chez les animaux** (plus rarement E chez les volailles d'élevage). Il existe en sus des mosaïques C/D et D/C qui expliquent l'imprécision des chiffres

dans le tableau ci– après car il est difficile de distinguer expérimentalement ces mosaïques des toxinotypes C ou D ⁴.

On remarquera que des cas dus au type D/C sont répertoriés chez des bovins dans des élevages en lien épidémiologique avec des élevages de volailles infectés par ce même type toxinique. Néanmoins, la majorité des cas bovins est due au type mosaïque D/C, alors que le type C/D est dominant chez les volailles et les oiseaux sauvages .

Tableau I : Toxinotypes isolés durant la période 1998-2000³

ESPECES ANIMALES	A	B	C	D	E
Humains (47 cas)	4	39			4
Bovins (63) *			5 à 8	55 à 58	
Oiseaux d'élevage (61) *			43 à 48	4 à 9	8
Oiseaux sauvages (87) *			78 à 83	3 à 8	
Chien (12)*			3 à 12	0 à 9	
Sanglier (1) *				1	
Chevreuil (1) *			1		
Vison (3) *			3		



Toxinotype le plus fréquent dans l'Espèce



Toxinotype le moins fréquent dans l'Espèce

2- SUSPECTER UN CAS DE BOTULISME

Suspicion Clinique

Le Botulisme est caractérisé, chez toutes les espèces, par **une paralysie flasque généralement ascendante**, sans lésions caractéristiques à l'autopsie.

CAS DES RUMINANTS⁴

Il existe 4 formes dont la **paralysie flasque** est la **caractéristique commune**

Suraigüe : décubitus latéral suite à la paralysie et mort en quelques heures.

Aigüe :

- Symptômes non spécifiques suivis de l'apparition d'une paralysie des muscles de la tête (muscles masticateurs, langue, déglutition...), mydriase.
- Généralisation de la paralysie aux muscles abdominaux et locomoteurs (démarche en trainant les pieds). La sensibilité est conservée.
- Enfin, Décubitus sterno-abdominal puis latéral mort en 2-3 jours par asphyxie ou fausse déglutition.

Subaigüe : Il s'agit d'une forme atténuée plus lente. On retrouve les mêmes symptômes au niveau de la tête (langue, mydriase) et une paralysie ascendante débutant par les membres postérieurs. Mort en 8 j ou guérison en quelques semaines

Chronique : forme atténuée, marquée par une démarche hésitante, évoluant vers la guérison en quelques semaines ou mois.

CAS DES VOLAILLES ⁵

Les taux de morbidité et mortalité varient en fonction de la quantité de toxine ingérée ou assimilée. Des mortalités jusqu'à 100 % ont été décrites dans certains élevages (dindes).

Les signes cliniques sont identiques quelle que soit l'espèce : **une paralysie flasque ascendante**. La paralysie débute par les pattes (incoordination, ataxie, boiteries), puis évolue vers les ailes, le cou et les paupières.

Les animaux reposent en décubitus sternal, ont des difficultés à se déplacer, les ailes tombantes et le cou flasque (bec sur la litière) ; ils présentent un **aspect somnolent** du fait de cette immobilité et de leurs paupières tombantes.

On peut observer de la frilosité, de la diarrhée, des régurgitations d'aliments. Des difficultés respiratoires sont aussi notées, notamment chez le canard de barbarie.

La mort survient en 1 à 8 jours, suite à la paralysie des muscles abdominaux et cardiaques.

CAS DES OISEAUX SAUVAGES

On constate principalement une **augmentation de la mortalité**. On peut aussi observer des difficultés d'envol ou de locomotion, un port des ailes anormal, des difficultés à maintenir le cou droit donc des noyades.

La mortalité lors d'un épisode de botulisme dans l'avifaune sauvage peut être élevée, bien que difficile à évaluer de façon précise, (exemple : 30 000 oiseaux morts lors du foyer sur le lac de Grand Lieu (44) en 1995).

Tableau II : Signes cliniques chez les volailles et les ruminants atteints de botulisme

VOLAILLES	BOVINS
Syndrome de paralysie flasque	Syndrome de paralysie flasque
Ataxie, ailes tombantes, décubitus sternal, difficultés respiratoires : aspect somnolent des animaux (paupières tombantes et immobilité). Possible diarrhée et régurgitations.	Commence par la tête (muscles masticateurs, mydriase) puis vers le reste du corps (décubitus sternal), sans fièvre associée , et avec conservation des réflexes et de la sensibilité cutanée .
Mort en 1 à 8 jours par asphyxie liée à la paralysie des muscles respiratoires.	Mort en quelques heures à 8 j par asphyxie ou fausse déglutition

Tableau III: Diagnostic différentiel

OISEAUX		RUMINANTS ⁷
INTOXICATION	AUTRES INFECTIONS ³	
Alphachloralose	Maladie de Newcastle	Hypocalcémie
Plomb	Influenza aviaire	Rage paralytique
Sélénium	Maladie de Marek	Louping ill
Ionophores	Encéphalomyélite aviaire	Listériose
	<i>Clostridium perfringens</i>	Intoxication aux organophosphorés
	Rouget	
	Rouget	
	Pasteurellose aiguë	

Contexte épidémiologique : source potentielle de contamination.

La suspicion d'un épisode de botulisme doit s'appuyer non seulement sur les symptômes mais aussi sur le contexte épidémiologique qui découle des particularités physiologiques des bactéries du genre *Clostridium botulinum*, responsables de la maladie.

Les bactéries du Genre *Clostridium*, **hydro-telluriques**, sont largement réparties dans l'environnement (sol, cadavres d'animaux morts de botulisme ou porteurs de *C. botulinum*) et **très résistantes aux conditions extrêmes sous forme de spores**. Une fois dans des conditions favorables à leur croissance (comme les aliments et les cadavres), ces spores peuvent germer et produire des cellules végétatives toxigènes.

La maladie est liée au passage de la toxine de l'intestin vers le sang soit par ingestion directe de la toxine (**intoxication**), soit par production de la toxine dans l'intestin (**toxi-infection**) suite à l'ingestion de formes végétatives ou de spores de *Clostridium*. **La toxi-infection semble être prédominante chez les bovins⁴ et les oiseaux⁵.**

Les *Clostridium* du groupe C et D se développent à une température optimum de 40 °C dans un milieu riche en matière organique (2-3°C pour le groupe E⁹)

Les cadavres d'animaux morts du botulisme ou porteurs dans leur intestin de *C. botulinum* sont la principale source de contamination de l'eau ou des aliments. La contamination par de la terre d'aliments conservés de manière anaérobie (ensilages) a aussi été mise en cause.

« Exemple, décrit en 2008 en France, d'un épisode de botulisme ayant provoqué la mort de 82 vaches d'un cheptel de 162 laitières, à la suite de la distribution d'ensilage « frais » d'herbe (coupée 5 jours plus tôt et issue d'une parcelle qui avait été retournée par des sangliers) polluée par de la terre »

Les déjections de volailles contaminées sont régulièrement mises en cause dans les cas de transmission du botulisme des volailles aux bovins. Cette transmission peut être soit directe par épandage des déjections sur les pâtures soit indirecte par dispersion aérienne sur les parcelles à proximité⁴.

Tableau IV : Modes de contamination par le botulisme des bovins et les volailles

Modes de contamination	BOVIN	VOLAILE
Tellurique	Aliments souillés conservés de manière anaérobie (ensilages)	Sol non bétonné ou fissuré (persistance très longue dans les sols d'où récidive)
Cadavres d'animaux (morts ou porteurs de <i>C. botulinum</i>)	Contamination d'aliments ou de l'eau	Picorage de cadavres (volailles ou rongeurs) ou d'asticots contaminés Eau
Déjections contaminées	<ul style="list-style-type: none"> Directe par épandage des déjections sur les pâtures Indirecte dispersion par voie aérienne sur les parcelles ou aliments à proximité⁴ 	Contamination des parcours

Bilan suspicion

BILAN SUSPICION BOVINS :

Une suspicion de botulisme **chez les bovins** est fondée essentiellement sur l'observation d'un **Syndrome de paralysie flasque** évoluant progressivement vers la mort dans un contexte écologique et épidémiologique favorisant **l'accès des animaux à des sources de contamination botulinique** .

BILAN SUSPICION VOLAILLES :

Le botulisme doit être suspecté lorsqu'un syndrome **augmentation de mortalité et paralysie flasque** est **associé à l'une ou plusieurs des circonstances suivantes** :

- Épisode antérieur de botulisme sur l'élevage
- Mauvaise conduite hygiénique dont ramassage insuffisant des cadavres
- Stock de cadavres dans le voisinage
- Botulisme chez les carnivores domestiques de l'élevage
- Volailles à fort Gain Moyen Quotidien en croissance
- Météorologie chaude et orageuse
- Proximité d'une étendue d'eau

Le contexte épidémiologique permettant de conforter la suspicion consistera à rechercher une source potentielle de contamination alimentaire des animaux.

D'où l'importance d'une étroite collaboration entre les vétérinaires intervenant en aviculture et en élevage bovin.

3- CONFIRMER ET TYPER LA SUSPICION

Il n'y a que très peu de lésions nécropsiques. La confirmation de la suspicion doit donc être faite au laboratoire.

Pour cela, deux approches sont possibles : la démonstration de la présence de la toxine botulique ou la démonstration de la présence du pathogène capable de produire la toxine botulique¹⁰

Recherche directe de la toxine :

Historiquement, la technique utilisée pour la détection directe de la toxine est le **test de létalité sur souris associé à un typage par séro-protection** à l'aide de sérums neutralisants spécifiques de chaque type de toxine botulique³.

Cette méthode reste la méthode officielle. Elle s'avère relativement sensible sur sérum de volaille beaucoup moins sur sérum de ruminants. Les prélèvements hépatiques pour les ruminant amélioreraient la sensibilité.

On notera aussi que plus la pathologie est évoluée moins le test est fiable car le taux de toxine diminue dans le temps jusqu'à devenir indétectable.

Recherche de Clostridium neurotoxinogènes

La phase bactériémique est souvent courte. Il est donc assez aléatoire d'isoler cette bactérie par cette méthode à partir de prélèvements sanguins.

PAR CULTURE :

elle se pratique sur milieu d'enrichissement, suivie de la recherche de la toxine botulique dans le surnageant de culture.

PAR PCR : MISE EN ÉVIDENCE DU GÈNE CODANT POUR LA NEUROTOXINE .

Cette méthode apparait être la plus sensible et la plus rapide. Elle permet de distinguer aussi les différents toxinotypes.

Pour le botulisme aviaire, une étude a été mise en place afin d'identifier les prélèvements les plus pertinents à analyser pour confirmer le botulisme en laboratoire et d'optimiser les paramètres de l'analyse¹⁰ par PCR en temps réel. Les conclusions de cette étude, menée par l'Anses laboratoire de Ploufragan-Plouzané et Laboce, pourraient à l'avenir modifier la méthode de référence de confirmation de botulisme aviaire .

Tableau V : Prélèvements à réaliser en cas de suspicion (annexes 1 et 2)

Prélèvements	BOVINS	OISEAUX
Sang	La recherche sur sérum n'est plus réalisée en Bretagne car peu sensible	La recherche sur sérum n'est plus effectuée en Bretagne
Prélèvements digestifs	<ul style="list-style-type: none"> • Anse d'intestin grêle congestionnée ou avec un contenu liquide (prélèvement de référence) • Contenu du rumen • Foie • Vésicule biliaire • Fèces • Contenu rectum/colon 	4 foies de volailles malades

NB– Pour les oiseaux sauvages envoyer l'animal entier (si possible un malade euthanasié), des prélèvements d'environnement peuvent être faits

Des prélèvements d'environnements (aliment, litière, eau) peuvent aussi être effectués pour compléter l'enquête épidémiologique.

Les prélèvements sont à envoyer à Laboce par le vétérinaire de l'élevage.

Dans le cas du botulisme aviaire, afin d'optimiser la méthode d'analyses (temps et coût), les foies seront analysés par différentes approches par le LABOCEA et le LNR botulisme aviaire (Anses- Laboratoire de Ploufragan).

Une **PCR GeneDisc** C, D, C/D, D/C est réalisée au LABOCEA.

L'ANSES (**LNR pour le botulisme aviaire : ANSES – Laboratoire de Ploufragan**) effectue des **PCR en temps réel** C, D, C/D, D/C et E, complémentaires afin d'optimiser les méthodes de détection.

4- CONTEXTE REGLEMENTAIRE

Le botulisme est classé parmi les **dangers sanitaires de première catégorie, sa déclaration est obligatoire à la DD(CS)PP pour toute espèce.**

En volailles, la déclaration doit être faite **au plus tard au stade de la confirmation**. **En bovin**, la déclaration doit être faite **dès le stade de suspicion**.

Aucune action de police sanitaire n'est prévue par

arrêté ministériel spécifique. Le préfet pourra décider, en fonction de la situation, d'émettre un APMS remplacé par un APDI en cas de confirmation de botulisme,

Malgré l'absence d'arrêté ministériel est, la DGAL conseille un certain nombre de mesures à mettre en place suite à une confirmation de botulisme type C/D.

Mesures conseillées par la DGAL suite à une confirmation de botulisme type C/D:

EN ELEVAGE DE BOVINS

- **Maintenir les animaux dans l'exploitation** au minimum 17 jours après le début des symptômes observés sur le dernier animal ;
- **Ecarter le lait issu des animaux malades**. Le lait sera dirigé vers un équarrisseur ou bien une usine de production de biogaz. L'épandage n'est pas préconisé.
- Une vigilance doit être apportée à **l'hygiène de la traite pour éviter les contaminations croisées** du lait. Si le lait n'est ni stérilisé ni traité UHT, une analyse de risque devra être faite.
- Le lait des vaches saines ou asymptomatiques peut être utilisé notamment stérilisé ou traité UHT pendant minimum 17 jours après l'apparition du dernier cas.
- **Inspecter l'ensilage** à la recherche d'éventuelles souillures par des carcasses putréfiées (petits rongeurs...), de terre et de moisissures. Les parties suspectes ne seront pas distribuées aux animaux. L'ensilage souillé, ne pourra pas être épandu sur les pâtures afin de limiter le risque de transmission aux animaux ;
- **Vérifier et rincer les sources d'abreuvement** (recherche la présence éventuelle de cadavre d'animaux) ;
- **Traiter les fumiers** ;
- **Si un élevage de volailles est situé à proximité des bovins** : la collecte des cadavres devra être biquotidienne. Ils seront placés dans un conteneur fermé. Le fumier de volailles ne sera pas épandu sur les pâtures.

EN ELEVAGE DE VOLAILLES

Gestion des produits : type C ou D, passage à l'abattoir possible avec :

- Inspection préalable du lot de volailles par un vétérinaire et attestation de bonne santé
- Abattage fin de chaîne
- Mesures spécifiques éventuelles sur les abats et les produits

Enquête épidémiologique :

- Inspecter l'aliment (recherche d'éventuelles souillures par des carcasses putréfiées (petits rongeurs...), de la et des moisissures). Les parties suspectes ne seront pas données comme aliments aux animaux.
- Vérifier et rincer les sources d'abreuvement (recherche la présence éventuelle de cadavre d'animaux) ;
- Recherche d'antécédents
- **Traiter les fumiers** :
- **Nettoyage-désinfection** des bâtiments ayant hébergé des animaux malades (désinfectant sporicide : aldéhydes, iodophores)

5- MESURES PROPHYLACTIQUES

Biosécurité

Afin de limiter les risques d'apparition d'un épisode de botulisme en élevage, il sera essentiel de maîtriser les facteurs de contamination des animaux, ainsi que de persistance de la bactérie dans l'environnement.

Ainsi la prévention du botulisme est basée sur une **bonne hygiène générale de l'élevage** et notamment une **bonne gestion des cadavres**. Il est indispensable de limiter la potentielle contamination de l'eau et des aliments par ces cadavres ainsi que par les déjections d'animaux malades ou porteurs de *Clostridium botulinum*.

La bonne gestion des cadavres en élevages avicoles est importante pour prévenir le risque d'extension aux bovins par l'intermédiaire de l'épandage de fumiers et lisiers contaminés. Les fumiers de volailles atteintes de botulisme devront être détruits par incinération sous contrôle des pompiers. Le lisier de canard doit être traité dans la fosse à l'aide de bases fortes (chaux, soude) avant son enfouissement ou traitement en station.

Il est à noter que les fumiers de volailles doivent être bâchés s'ils sont stockés plus de 10 jours au champ .

Tableau VI : Prophylaxie hygiénique de l'intoxication et/ou de la toxi-infection botulique(s)³

Ramassage biquotidien des cadavres de volailles	Pas de cadavres dans les fosses
	Stockage en congélateur
Qualité de l'eau de boisson	Absence de cadavres d'animaux (rongeurs, etc.) dans les réservoirs
	Nettoyage – Désinfection des circuits
	Acidification
Qualité de l'aliment	Absence de cadavres dans les matières premières
	Qualité bactériologique des matières premières
	Réduction de la valeur énergétique de l'aliment
Lutte contre les mouches et asticots	
Lutte contre les rongeurs	
Conduite d'élevage	Ordre et propreté
	Changement de tenue et chaussures (sas sanitaire)
	Lutte contre les coups de chaleur : aération, abreuvement etc.
	Bétonnage des entrées et sorties et si possible du sol du poulailler
Désinfection de l'élevage : indispensable	Incinération de la litière sous contrôle des pompiers
	Nettoyage poussé de l'élevage et de ses abords
	Prévoir une fosse de récupération des eaux de lavage
	Utilisation de désinfectants sporicides : aldéhydes, iodophores

Traitement

Aucun traitement n'existe pour les ruminants

Pour les volailles, un traitement antibiotique (β -lactamine, tylosine...) du lot atteint est envisageable (non applicable sur les oiseaux déjà malades) afin de prévenir la multiplication des clostridies dans leur intestin et stopper la maladie⁵.

Vaccination

Chez les **bovins**, la vaccination à l'aide d'anatoxine(s) peut être utilisée, avec des vaccins mono ou bivalents (dirigés contre les toxines C et D). Elle se pratique couramment dans les pays où le botulisme bovin est enzootique.

Elle peut être utilisée en France **dans les foyers** (après une suspicion clinique par exemple) **afin de prévenir l'expression clinique, ou en prévention afin de réduire les risques de récurrence après un foyer.**

Aucune AMM n'a été délivrée en France pour de tels vaccins.

Le seul vaccin disponible en France est **l'ULTRAVAC BOTULINIUM® (Zoetis)** qui dispose d'une **ATU depuis 2011**. Ce vaccin bivalent (anatoxine C et D) est destiné à la **vaccination des bovins et ovins**. L'immunité est acquise 4 semaines après la première injection⁸. Une seconde injection est conseillée au bout de 4 à 6 semaines avec rappel annuel. Aucune étude n'a été faite pour mettre en évidence une quelconque immunité croisée avec les mosaïques C/D ou D/C.

Le vaccin est à commander directement par mail à ZOETIS à l'adresse :

commandes.zoetis@zoetis.com

Joindre au message une ordonnance détaillant notamment la quantité désirée et un RIB lors d'une première commande.

Il n'y a qu'une seule présentation disponible : outre de 250 ml = 100 doses bovines

Chez les volailles, aucun vaccin ne dispose d'AMM en France. En outre, la vaccination systématique n'est pas forcément économiquement envisageable.

Il existe néanmoins des vaccins (contre le type C en particulier) indiqués pour les volailles, (aucun contre l'anatoxine E)..

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Les liens internet sous les références vous permettent de visualiser directement les documents cités

1 « LE BOTULISME HUMAIN EN FRANCE, 2007-2009 » CHRISTELLE MAZUET, PHILIPPE BOUVET, LISA A. KING, MICHEL POPOFF BULLETIN ÉPIDÉMIOLOGIQUE HEBDOMADAIRE DE L'INVS

http://invs.santepubliquefrance.fr//beh/2011/06/beh_06_2011.pdf

2 « LE RISQUE DE TRANSMISSION À L'HOMME DU BOTULISME AVIAIRE ET BOVIN » JEAN-LOUIS MARTEL, BARBARA DUFOUR ET ANNE-MARIE HATTENBERGER BULLETIN ÉPIDÉMIOLOGIQUE AFSSA N°10 P3-4

<https://pro.anses.fr/bulletin-epidemiologique/Documents/BEP-mg-BE10-art2.pdf>

3 « RAPPORT SUR LE BOTULISME D'ORIGINE AVIAIRE ET BOVINE » OCTOBRE 2002 AFSSA

<https://www.anses.fr/fr/system/files/SANT-Ra-Botulisme.pdf>

4 « DANGERS SANITAIRES DE 1ÈRE ET 2ÈME CATEGORIES CHEZ LES RUMINANTS » CAROLE PEROZ ET JEAN-PIERRE GANIERE (ONIRIS) P 8 À 13.

<https://eve.vet-alfort.fr/course/view.php?id=280>

5 « DANGERS SANITAIRES DE 1ÈRE ET 2ÈME CATEGORIES CHEZ LES OISEAUX ET LES LAGOMORPHES » CAROLE PEROZ, JEAN PIERRE GANIERE, MARC ARTOIS ET JEAN-LUC GUERIN P 43 À 50

<https://eve.vet-alfort.fr/course/view.php?id=280>

6 ARRÊTÉ DU 29 JUILLET 2013 RELATIF À LA DÉFINITION DES DANGERS SANITAIRES DE 1ÈRE CATÉGORIE ET 2ÈME CATÉGORIE POUR LES ESPÈCES ANIMALES PRÉCISE QUE LE BOTULISME EST DANGER DE 1ÈRE CATÉGORIE CHEZ TOUTES LES ESPÈCES SENSIBLES

<https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000027831750&categorieLien=id>

7 « ASPECTS CLINIQUES DES MALADIES NERVEUSES DES PETITS RUMINANTS » THESE POUR LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE DELAUNAY CLARISSE, 2007

http://theses.vet-alfort.fr/Th_multimedia/ovins/htm/bacterienne/botulisme.htm

8 RCP ULTRAVAX BOTULINIUM® (ZOETIS)9 « BOTULIME » RECUEIL JNGTV NANTES 2008 R. POPOFF P367 À 371

9 « BOTULIME » RECUEIL JNGTV NANTES 2008 R. POPOFF P367 À 371

10 « DEVELOPPEMENT ET VALIDATION D'UNE NOUVELLE METHODE DE DIAGNOSTIC DU BOTULISME AVIAIRE ».

Douzièmes Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, Tours, 05 et 06 avril 2017 . C. Le Maréchal¹, S. Rouxel¹, V. Ballan¹, E. Houard¹, T. Poezevara¹, M.H BayonAuboyer³, R. Souillard², H. Morvan³, Séverine Rautureau⁶, Isabelle Guerry⁶, Loïc Cartau⁶, M.A. Baudouard³, C. Woudstra⁴, C. Mazuet⁵, S. Le Bouquin², P. Fach⁴, M. Popoff⁵, M. Chemaly¹

Annexe 1 -

Optimisation du diagnostic du botulisme bovin (étude LABOCEA-LNR botulisme aviaire)

Optimisation du diagnostic du botulisme bovin (étude LABOCEA-LNR botulisme aviaire)				
Contexte				
Une étude menée entre 2013 et 2016 par le LABOCEA et le LNR botulisme aviaire a permis d'améliorer la méthode de diagnostic du botulisme aviaire et d'aboutir à un outil de détection de <i>C. botulinum</i> par PCR en temps réel. Une étude similaire est mise en place afin d'améliorer le diagnostic du botulisme bovin par PCR en temps réel.				
Prélèvements à réaliser				
En cas de suspicion de botulisme bovin, il est demandé de collecter les prélèvements suivants sur animaux concernés par la suspicion :				
<ul style="list-style-type: none"> • Anse congestionnée du grêle (prélèvement de référence actuellement) • Contenu du rumen • Foie • Vésicule biliaire • Fèces • Contenu rectum/colon 				
Ces prélèvements ont été retenus sur la base des pratiques des autres laboratoires européens et de la bibliographie.				
Analyses pour confirmer le diagnostic				
L'anse intestinale du grêle sera analysée par le LABOCEA (à la charge du demandeur de l'analyse selon le tarif courant) selon deux protocoles d'enrichissement différents (le protocole de routine et un nouveau protocole) suivis par une extraction d'ADN et une détection par PCR en temps réel comme cela est pratiqué actuellement en routine.				
Les autres prélèvements seront stockés au congélateur puis analysés à posteriori par le LNR botulisme aviaire (à la charge du LNR) selon les deux mêmes protocoles d'enrichissement.				
Une analyse comparative des résultats obtenus par ces différentes approches sera menée à l'issue de l'étude afin d'identifier le prélèvement le plus pertinent à analyser ainsi que le protocole d'analyse le plus adapté.				
Contact				
Pour toute question concernant ce protocole, n'hésitez pas à contacter :				
Organisme	Personne	Adresse	Téléphone	Mail
LABOCEA				
LNR botulisme aviaire	Caroline Le Maréchal	Laboratoire de Ploufragan Unité HQPAP BP 53 22440 PLOUFRAGAN	02 96 01 85 33	LNR-Botu-aviaire@anses.fr

Annexe 2 : Protocole optimisation échantillonnage LNR botulisme aviaire Anses version juillet 2016

<p align="center"><u>Protocole d'analyses en cas de suspicion de botulisme (Labocea et LNR botulisme aviaire)</u></p>		
<p>Détection de <i>Clostridium botulinum</i> de type C, D, C/D et D/C et E à partir de l'analyse de 4 foies par PCR en temps réel. Les 4 foies sont envoyés au LABOCEA par le vétérinaire de l'élevage. Afin d'optimiser la méthode d'analyses (temps et coût), les prélèvements seront analysés par différentes approches par le LABOCEA et le LNR botulisme aviaire (Anses).</p> <p align="center"><u>Analyses pour confirmer la suspicion clinique</u></p>		
Analyses du LABOCEA (à la charge du vétérinaire)	Analyses du LNR botulisme aviaire (Anses) (à la charge du LNR botulisme aviaire)	Délai d'obtention des résultats
PCR Gene Disc visant les gènes codant pour les toxines C, D, C/D et D/C : <ul style="list-style-type: none"> Après 48h d'enrichissement d'un pool des foies 	PCR en temps réel visant les gènes codant pour les toxines C, D, C/D, D/C et E : <ul style="list-style-type: none"> Après 24h d'enrichissement de chaque foie (méthode identique à l'étude 2013-2014) 	54H à 72H ouvrés à la date de réception des prélèvements.
Ces analyses sur les foies réalisées par le LABOCEA et le LNR botulisme aviaire (Anses) permettent de <u>confirmer le diagnostic de botulisme aviaire</u> : <u>Obtention des résultats avant l'envoi du lot à l'abattoir.</u>		
<p align="center"><u>Si le cas est confirmé, et en accord avec l'éleveur et le vétérinaire, le LNR botulisme aviaire (Anses) pourra réaliser une investigation épidémiologique dans l'élevage.</u></p>		