



Rapport annuel d'activité, année 2021

Laboratoire National de Référence

Botulisme aviaire

**Nom du responsable du LNR**

Caroline LE MARECHAL

**Nom du laboratoire où l'activité du LNR est mise en œuvre**

Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort - site de Ploufragan

**Nom de l'unité où l'activité du LNR est mise en œuvre**

Hygiène et Qualité des Produits Avicoles et Porcins

**Nom du ou des laboratoires ayant collaboré avec le LNR dans le cadre de son mandat sur l'exercice considéré**

Laboratoire de sécurité des aliments

**Nom des unités ayant collaboré avec le LNR dans le cadre de son mandat sur l'exercice considéré**

Unité EPISABE : Epidémiologie, Santé et Bien-être des Animaux, laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort.

Plateforme IdentityPath, laboratoire de sécurité sanitaire des aliments.

## **Dangers sanitaires de catégories 1 et 2 couverts par le mandat**

Le botulisme animal était classé danger sanitaire de catégorie 1 pour toutes les espèces sensibles. Le règlement UE 2016/149 « loi santé animale » est entré en application le 21/04/2021. Les modifications relatives à la catégorisation de ce(s) danger(s) sanitaire(s) seront prises en compte dans le RA LNR 2023 pour les activités 2022.

## **Les faits marquants de l'année**

En 2021, le botulisme a été confirmé par le LNR dans 1 élevage de dindes (1 type C/D), dans 10 cas en faune sauvage (10 types C/D) et 13 élevages bovins (12 types D/C et 1 type C ; les épisodes bovins peuvent être en lien avec des élevages de volaille). Le nombre de confirmations en élevages avicoles est le plus bas depuis la mise en place du LNR en 2013 (cette tendance se dessinait déjà en 2020), tandis que le nombre de confirmations en faune sauvage est stable par rapport aux années précédentes.

Le botulisme bovin est à déclaration obligatoire, le LNR botulisme aviaire apporte un appui pour le diagnostic du botulisme bovin et les enquêtes épidémiologiques. Une hausse du nombre de foyers (20) avait été observée en élevage bovin en 2020, le nombre de foyers confirmés en 2021 est légèrement au-dessus de la moyenne de 10 observée sur la période 2009-2019 en France.

Une dizaine d'enquêtes épidémiologiques a été menée dans des élevages suite aux confirmations diagnostiques par les DDPP et GDS des départements concernés en lien avec le LNR.

## **1. Méthodes développées ou révisées**

**Nombre de méthodes développées ou révisées, prêtes à être mises en œuvre**

0 méthode(s)

**Nombre total de méthodes transférées par le LNR à son réseau dans l'année**

0 méthode(s)

## **2. Matériels biologiques ou chimiques, échantillons et souches d'intérêt**

Information disponible auprès du LNR.

## **3. Activités d'analyse**

### **3.1 Analyses officielles de première intention**

Nombre d'analyses officielles de première intention réalisées dans l'année (de biotypage, sérotypage, caractérisation moléculaire...)

285 analyse(s)

### **Détail par type d'analyse de première intention**

Nombre de suspicions de botulisme aviaire : 36

Nombre d'échantillons analysés : 172

Nombre de suspicions de botulisme bovin : 24

Nombre d'échantillons analysés : 100

Autres espèces animales : 13 échantillons

La tendance en termes de volume d'analyses par rapport aux années précédentes est en diminution.

### **3.2 Analyses officielles de confirmation**

Nombre d'analyses officielles de seconde intention réalisées dans l'année (de biotypage, sérotypage, caractérisation moléculaire...)

8 analyse(s)

#### **Détail par type d'analyse de confirmation**

Nombre de suspicions de botulisme aviaire : 4

Nombre d'échantillons : 8

Il s'agit d'extraits d'ADN négatifs en LVD. La négativité est confirmée par le LNR. Le nombre est en diminution.

### **3.3 Autres analyses**

**Nombre estimé d'autres analyses (non officielles) réalisées dans l'année en lien avec le mandat de LNR**

980 analyse(s)

#### **Détail par type d'autres analyses**

Ces analyses sont de deux types :

- 456 analyses réalisées en prestation (à la demande du client, échantillons d'aliment ou d'eau en particulier) ou dans le cadre d'enquêtes épidémiologiques.  
Augmentation par rapport à 2019 (226) et 2020 (390)
- 524 échantillons analysés en 2021, dans le cadre du projet BOTUSOI visant à suivre la contamination des effluents par *C. botulinum* au moment des épandages dans les élevages avicoles et bovins.

### **3.4 Essais interlaboratoires d'aptitude auxquels le LNR a participé dans l'année**

Détail des essais interlaboratoires d'aptitude (EILA) auxquels le LNR a participé dans l'année, dans le cadre : National; UE (en particulier les EILA organisés par le LRUE); International

Le LNR a participé à un EIL international organisé par le CNR des bactéries anaérobies et du botulisme (3 participants).

## **4. Activités de production et de contrôle de matériaux de référence et de réactifs biologiques**

**Le LNR produit des réactifs à usage du LNR uniquement**

Oui

#### **Types de réactifs produits (antigènes, kits, autres)**

Spores utilisées comme témoin positif pour la méthode complète

Extraits d'ADN utilisés comme témoins positifs pour les PCR

#### **Nombre de lots produits dans l'année**

Témoin positif de processus: spores 0 lot, stable depuis 2016

Témoins positifs de PCR: extraits d'ADN, 1 lot, stable

**Analyse de l'évolution (augmentation, diminution) des tendances en termes d'activité sur les 5 dernières années**

Activité stable sur les 5 dernières années.

**Le LNR produit des réactifs à usage du LNR et du réseau**

non

**Le LNR produit des matériaux de référence à usage du LNR uniquement**

Non

**Le LNR produit des matériaux de référence à usage du LNR et du réseau**

Non

**Le LNR réalise des contrôles de réactifs commerciaux**

Non

## **5. Activités d'appui scientifique et technique**

### **5.1 Demandes d'appui scientifique et technique (AST) des ministères (de l'agriculture, de la santé, etc...) ou d'instances européennes ou internationales qui concernent le domaine de compétence du LNR**

**Nombre de demandes d'AST reçues dans l'année**

0 demande(s)

**Nombre de rapports d'AST rendus dans l'année, issus de demandes de l'année ou de l'année précédente**

0 rapport(s)

### **5.2 Autres expertises**

**Les membres de l'équipe du LNR peuvent avoir des activités d'expertise (internes: CES, GT ou externe: EFSA...) ou des activités auprès de commissions de normalisation (Afnor...).**

Deux personnes du LNR botulisme aviaire participent aux groupes de travail en charge du traitement des saisines portant sur le botulisme (premiers rapports disponibles en ligne :

<https://www.anses.fr/fr/system/files/SABA2019SA0112Ra.pdf> ;

<https://www.anses.fr/fr/system/files/SABA2019SA0112Ra-1.pdf>)

La suppléante du LNR est experte permanente auprès de l'EFSA (European Food Safety Authority), panel Biohaz (Biological Hazards).

### **5.3 Dossiers de demande d'agrément**

**Nombre de dossiers de demande d'agrément étudiés dans l'année**

0 dossier(s)

### **5.4 Activités d'appui ou de conseil aux autorités ou aux professionnels**

Questions relatives au diagnostic (prélèvements à réaliser, délai des analyses), questions sur la gestion des épisodes (données bibliographiques sur les risques associés aux produits issus de lots atteints, conseils sur le nettoyage et la désinfection des foyers et sur la gestion des effluents). Cette activité d'appui est essentiellement proportionnelle au nombre de foyers : de nombreux échanges ont lieu avec les vétérinaires, laboratoires départementaux, gestionnaires d'étangs, ARS, DDPP et DGAL pour la plupart des suspicions.

En l'absence de réseau de laboratoires agréés le LNR est amené cependant à fournir à certains laboratoires demandeurs des plasmides avec inserts comme témoin positif non MOT pour la PCR.

## **6. Animation du réseau de laboratoires agréés ou reconnus**

### **6.1 Description du réseau**

#### **Animation d'un réseau de laboratoires agréés**

Non

#### **Animation d'un réseau de laboratoires reconnus**

Non

### **6.2 Essais interlaboratoires d'aptitude**

#### **6.2.1 Organisation d'essais interlaboratoires d'aptitude**

##### **Nombre d'EILA organisés par le LNR au cours de l'année**

0 EILA

#### **6.2.2 Exploitation de résultats d'essais interlaboratoires d'aptitude organisé par un tiers**

##### **Le LNR exploite les résultats d'EILA organisé(s) par un (des) tiers (LRUE, autre...)**

Non

### **6.3 Autres actions visant à vérifier l'aptitude des laboratoires**

#### **Actions mises en œuvre**

sans objet

### **6.4 Formation, organisation d'ateliers**

#### **Nombre de journées d'échange et de restitution rassemblant les laboratoires agréés du réseau, organisées dans l'année**

0

#### **Nombre de sessions de formation des personnels des laboratoires agréés aux méthodes utilisées pour les contrôles officiels, organisées dans l'année**

0

#### **Autres formations dans le cadre des activités du LNR**

1 session(s) de formation

Une formation théorique en visio à destination des laboratoires départementaux a été organisée le 11 février 2021 afin de présenter les méthodes de diagnostic du botulisme aviaire et du botulisme bovin dans l'optique d'un transfert de méthode et de la création d'un réseau de laboratoires pour la mise en œuvre des analyses de première intention.

### **6.5 Organisation d'autres essais interlaboratoires (EIL)**

#### **Nombre d'EIL de validation (EILV) organisés par le LNR au cours de l'année**

0 EILV

#### **Nombre d'EIL de transfert (EILT) organisés par le LNR au cours de l'année**

0 EILT

## 7. Surveillance, alertes

### 7.1 Surveillance programmée par l'autorité sanitaire, notamment PS/PC et prophylaxie officielle en santé animale

L'autorité sanitaire a mis en œuvre dans l'année une surveillance programmée dans le champ du LNR

Non

### 7.2 Autres activités de surveillance

Le LNR est impliqué dans des activités de surveillance autres que celle programmée par l'autorité sanitaire

Non

### 7.3 Fiches d'alerte ou de signal

Le LNR a émis dans l'année des fiches d'alerte ou de signal dans Salsa (système d'alerte sanitaire de l'Anses)

Non

## 8. Activités de recherche en lien avec l'activité de référence

Acronyme	Titre	Statut
BOTAVI	Etude du portage sain de <i>C. botulinum</i> en faune sauvage	en cours
PATHOGAZ	Impact sanitaire de la méthanisation agricole mésophile : comment limiter la dissémination potentielle de souches pathogènes et/ou résistantes aux antibiotiques	en cours
CLOSTRICOX	Optimisation et validation d'un modèle infectieux d'implantation à <i>clostridium</i> chez le poulet	terminé
BOTUSOL	Botulisme animal et épandage des effluents : devenir de <i>Clostridium botulinum</i> dans le sol	en cours
BOTYP	Typage des souches de <i>C. botulinum</i> du groupe III : développement d'outils et application à l'épidémiologie du botulisme aviaire	en cours
TRACK'SPORE	Développement d'outils WGS pour discriminer les bactéries sporulées <i>Clostridium botulinum</i> et <i>Bacillus cereus</i> .	en cours
ALG-AD	Creating value from waste nutrients by integrating algal and anaerobic digestion technology	terminé
SANIMETHA	Réduction du risque sanitaire des digestats agricoles : Impact des traitements thermiques et électrochimiques sur les bactéries sporulantes ( <i>Clostridium</i> ) et les bactéries non sporulantes (entérocoques).	en cours

## **9. Relations avec le CNR**

**Existence d'un CNR dont le mandat recouvre au moins en partie celui du LNR**  
Oui

### **Intitulé du CNR**

Bactéries anaérobies et botulisme

### **Organisme porteur du CNR**

Institut Pasteur de Paris

### **Rencontre organisée dans l'année avec le CNR**

Oui

### **Collaboration avec le CNR dans le cadre de la surveillance**

sans objet

### **Collaboration avec le CNR dans le cadre de projets de recherche**

La responsable du CNR fait partie du comité de pilotage de la thèse BoTyp, et du projet BOTAVI en commun.

### **Autres collaborations avec le CNR, le cas échéant**

Etudes épidémiologiques conjointes, intercomparaison de résultats via des échanges de matériels biologiques

### **Transfert de matériel biologique**

Oui

## **10. Relations avec le LRUE**

**Détention d'un mandat LRUE qui recouvre au moins en partie celui du LNR**  
Non

**Existence d'un LRUE dont le mandat recouvre au moins en partie celui du LNR**

Non

## **11. Détention d'autres mandats de référence au niveau international**

**Autres mandats détenus par le LNR dans le même domaine de compétences**

Aucun

## Annexes

### Liste des publications et communications 2022 dans le cadre du mandat de LNR Botulisme aviaire

**Les noms des auteurs appartenant au LNR sont soulignés. Les publications de cette liste sont sous presse ou publiées.**

#### Publications scientifiques nationales et internationales ('journal article', classement « RCL »)

Le Gratiot, T., C. Le Marechal, M. Devaere, M. Chemaly, and Cédric Woudstra. 2021. "Exploration of the Diversity of Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats-Cas Systems in *Clostridium novyi sensu lato*." *Frontiers in Microbiology* 12 (2577). <https://doi: 10.3389/fmicb.2021.711413>.

Souillard, R., D. Grosjean, T. Le Gratiot, T. Poezevara, S. Rouxel, L. Balaine, S. Macé, L. Martin, F. Anniballi, M. Chemaly, S. Le Bouquin, and C. Le Maréchal. 2021. "Asymptomatic carriage of *C. botulinum* type D/C in broiler flocks as the source of contamination of a massive botulism outbreak on a dairy cattle farm." *Frontiers in Microbiology, section Food Microbiology* 12 (679377):1-12. <https://doi: 10.3389>.

#### Communications nationales ('conference proceedings ou 'conference paper')

Le Gratiot, T. 2021. "Development of new typing tools for *Clostridium botulinum* group III strains responsible for animal botulism outbreaks." com. orale Journées Scientifique de l'école doctorale EGAAL, Web conference, 29 June.

Le Gratiot, T., C. Woudstra, F. Anniballi, A. Felten, S. Rouxel, T. Poezevara, E. Houard, A. Avouac, M. Chemaly, et C. Le Maréchal. 2021. "Development of new molecular-based tools for the investigation of animal botulism outbreaks." com orale Journées scientifiques et doctorales de l'Anses, web conference, Septembre.

Le Gratiot, T., C. Woudstra, M. Devaere, M. Chemaly, and C. Le Maréchal. 2021. "Etude des systèmes CRISPR-Cas chez *Clostridium novyi sensu lato*." Poster Société Française de Microbiologie, Nantes, France, 22-24 Septembre.

Le Gratiot, T. 2021. "Développement d'outils de typage pour caractériser *Clostridium botulinum* du groupe III responsable du botulisme animal." Réunion d'Information et d'Echanges de l'Anses, web conference, 09 décembre.

#### Communications internationales ('conference proceedings ou 'conference paper')

Le Gratiot, T., F. Anniballi, R. Souillard, D. Grosjean, T. Poezevara, S. Rouxel, L. Balaine, S. Macé, L. Martin, S. Le Bouquin, and C. Le Maréchal. 2021. "Use of multi-locus variable number of tandem repeats analysis (MLVA) to identify the source of contamination of a cattle botulism outbreak." poster One Health EJP Annual Scientific Meeting, Copenhagen, Danemark, 09-11 Juin 2021.

Meloni, E., C. Le Maréchal, F. Millot, A. Payne, C. Mazuet, M. Guillemain, C. Calenge, C. Richomme, and A. Decors. 2021. "Estimation of *Clostridium botulinum* prevalence in wild waterfowl in France." 35th Congress of the International Union of Game Biologists, Budapest, Hongrie, 21-24 Septembre 2021.

#### Conférences sur invitation

Le Maréchal, C. 2021. "Connaître les possibles conséquences sur la santé publique : botulisme humain (généralités)." Connaître les possibles conséquences sur la santé publique : botulisme humain (généralités) Formation botulisme bovin (GTV Bretagne, DDPP35, DRAAF de Bretagne), *St Grégoire, France, 23 novembre 2021*.

Le Maréchal, C., et M. Le Men. 2021. "Connaitre *Clostridium botulinum* et les principaux signes cliniques pour être capable de poser un diagnostic de suspicion, connaitre les prélèvements à réaliser et savoir interpréter les résultats." Formation botulisme bovin (GTV Bretagne, DDPP35, DRAAF de Bretagne), *Saint Grégoire, France, 23 novembre 2021*.



**Autres** (thèses, rapports de projets, d'expertise, et documents d'appui scientifique et technique)

Meloni, Emma. 2021. "Estimation of *Clostridium botulinum* prevalence in wild avifauna and description of temporal evolution of prevalence and mortality in a botulism outbreak." Master thesis report Master thesis report, Agro Paris Tech, universite Paris-Saclay.