



anses

Évaluation des risques et mesures de gestion de cas de botulisme dans la faune sauvage

Avis de l'Anses
Rapport d'expertise collective

Juin 2025

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 10 juin 2025

AVIS de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

relatif à l'évaluation des risques et aux mesures de gestion de cas de botulisme dans la faune sauvage

L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.

L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.

Elle contribue également à assurer la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux, l'évaluation des propriétés nutritionnelles et fonctionnelles des aliments et, en évaluant l'impact des produits réglementés, la protection de l'environnement.

Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L. 1313-1 du Code de la santé publique).

Ses avis sont publiés sur son site internet.

L'Anses a été saisie le 25 juin 2019 par la Direction générale de l'alimentation (DGAL) pour la réalisation de l'expertise suivante : évaluation des risques et mesures de gestion de cas de botulisme dans la faune sauvage.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Le botulisme est une maladie neurologique humaine et animale, le plus souvent d'origine alimentaire, provoquée par l'action de neurotoxines bactériennes (toxines botuliques) produites par différentes espèces bactériennes du genre *Clostridium* (*C. botulinum*, *C. argentinense*, *C. butyricum* et *C. baratii*). Cette maladie se manifeste par une paralysie flasque pouvant aller jusqu'à la paralysie respiratoire et l'arrêt cardiaque. Neuf types toxiques¹, répartis en une quarantaine de sous-types, sont connus.

En France, le botulisme animal affecte essentiellement les oiseaux (sauvages et domestiques) et les bovins. Chez les volailles, il est recensé annuellement 20 à 30 foyers, majoritairement

¹ Les neurotoxines botuliques constituent une famille de toxines qui ont une structure chimique et des propriétés toxicologiques similaires mais qui se distinguent entre elles par leurs caractéristiques immunogéniques. Cette variabilité du pouvoir immunogène a été utilisée pour classer les neurotoxines botuliques en neuf types ou sérotypes (A à H et X). Le terme toxinotype peut être utilisé et a la même signification.

du type mosaïque C/D (élevages de poulets de chair et de dindes), suivi du type D et du type mosaïque D/C (uniquement dans les élevages de dindes). Une vingtaine de cas de botulisme affectant principalement des canards colverts sont également confirmés chaque année dans l'avifaune sauvage, principalement liés au type C/D. Chez les bovins, l'incidence est en moyenne d'une dizaine de foyers par an et les épisodes de botulisme sont dus aux types mosaïque D/C (majoritaire), C, mosaïque C/D et rarement D.

Les pertes en élevage liées à ces foyers et les interrogations sur leurs conséquences dans le domaine de la santé publique ont amené les pouvoirs publics à réglementer le botulisme animal en l'intégrant dans la liste des dangers sanitaires de première catégorie pour les espèces animales (arrêté du 29 juillet 2013)². Aujourd'hui, cette maladie figure dans la liste provisoire des maladies animales réglementées d'intérêt national en application de l'article L. 221-1 du code rural et de la pêche maritime (arrêté du 3 mai 2022)³. Pour autant, aucune mesure de police sanitaire de portée générale n'a été, à ce jour, édictée pour gérer les foyers de botulisme animal. Chacun de ces foyers est géré au cas par cas par la direction départementale en charge de la protection des populations (DDPP) concernée, et par la mission des urgences sanitaires (MUS) de la DGAL.

Afin de pouvoir disposer de données actualisées et déterminer des mesures de gestion adaptées aux particularités du botulisme des types C, D, mosaïques C/D et D/C, et E, la DGAL a sollicité l'Anses à la fin du mois de juin 2019 pour quatre saisines (saisines 2019-SA-0112 à 2019-SA-0115)⁴.

L'expertise des quatre saisines a été organisée en deux étapes :

1. une mise à jour des connaissances sur *Clostridium botulinum* (types C, D, mosaïques C/D et D/C, et E) effectuée par le groupe de travail (GT) « Groupe socle botulisme »⁵, portant sur les caractéristiques microbiologiques, les maladies humaine et animales (bovins, oiseaux et poissons), la présence des différentes formes et types dans l'environnement, le danger dans les denrées alimentaires d'origine animale ainsi que l'efficacité des méthodes et procédés d'inactivation ;

² Arrêté du 29 juillet 2013 relatif à la définition des dangers sanitaires de première et deuxième catégorie pour les espèces animales. Cet arrêté, aujourd'hui abrogé, était devenu obsolète depuis l'entrée en application, au 21/04/2021, du règlement (UE) 2016/429 du Parlement européen et du Conseil (*animal health law* ou loi santé animale), qui définit une liste de maladies animales transmissibles vis-à-vis desquelles s'appliquent les mesures de surveillance, de prévention et/ou de lutte prévues par ce règlement. Or, le botulisme animal n'a pas été retenu dans cette liste.

³ Arrêté du 3 mai 2022 listant les maladies animales réglementées d'intérêt national en application de l'article L. 221-1 du code rural et de la pêche maritime. Le botulisme animal figure dans l'annexe II de cet arrêté. Cette annexe destinée à être abrogée, réunit des maladies dont les mesures de surveillance, de prévention et/ou de lutte ne sont que transitoirement placées sous l'autorité de l'État.

⁴ 2019-SA-0112 : évaluation des mesures de maîtrise en filière bovine lors de la détection de cas de botulisme ; 2019-SA-0113 : décontamination et gestion des sous-produits d'élevage lors des cas de botulisme bovin et aviaire ; 2019-SA-0114 : évaluation des mesures de maîtrise en filière avicole lors de la détection de cas de botulisme ; 2019-SA-0115 : mesures de gestion de cas de botulisme dans la faune sauvage.

⁵ Anses, 2021. *Clostridium botulinum* : mise à jour des connaissances sur les différentes formes des types C, D, mosaïque C/D et D/C et E. Saisines n°2019-SA-0112 ; n°2019-SA-0113 ; n°2019-SA-0114 ; n°2019-SA-0115. Maisons-Alfort : Anses. <https://hal-anses.archives-ouvertes.fr/anses-03674557>.

2. le traitement des questions d'évaluation des risques par des GT spécifiques « Botulisme bovin-aviaire »⁶ et « Botulisme décontamination »⁷.

Le présent avis a vocation à répondre à la saisine 2019-SA-0115 qui est le quatrième et dernier volet de ces évaluations de risque réalisées par des GT *ad hoc*.

D'après le texte de la saisine 2019-SA-0115 (Annexe 1 du rapport d'expertise) : « (...) Depuis août 2018, les gènes codant pour les toxines C/D et E (le type E est impliqué dans les cas [de botulisme] humain) ont été détectés dans 3 foyers différents en faune sauvage. C'est la première fois que ce cas de figure se présente et les mesures de gestion n'ont pas été prévues.

Plusieurs questions se posent :

- [question 1.] Quel est le risque pour la santé publique lors de la manipulation de ces animaux [ou] lors de leur consommation ? Il est à noter que la recherche de botulisme dans l'avifaune n'est pas systématique (gibier sauvage) mais [n'est] mise en œuvre que lors de mortalités groupées ;
- [question 2.] La présence de cadavres potentiellement contaminés par des spores de *C. botulinum* du type C, D, C/D et E au bord des plans d'eaux représente-t-elle un risque pour la santé publique liée à la consommation de poissons ou lors d'activités de loisirs ?
- [question 3.] A ce jour, les recommandations données pour limiter l'épisode animal sont le ramassage des cadavres ainsi que le chaulage de la zone où les animaux ont été trouvés. Quelles autres préconisations peuvent être apportées, notamment auprès des chasseurs pour limiter [le] risque ? »

Les questions de la saisine ont été précisées après échange avec le demandeur le 27 novembre 2023 et l'expertise collective a porté sur le périmètre suivant, en lien avec les épisodes de botulisme des types C, D, mosaïques C/D et D/C, et E :

- l'évaluation du risque pour la santé publique humaine lors de la manipulation ou de la consommation de gibiers d'eau en cas d'épisode de botulisme ;
- l'évaluation du risque pour la santé publique humaine en lien avec la consommation de poissons ou les activités de loisirs en cas d'épisodes de botulisme, du fait de la présence de cadavres d'animaux dans la zone concernée ;
- les recommandations pour réduire l'intensité et la durée d'un épisode animal et limiter le risque pour la santé publique humaine en particulier vis-à-vis des chasseurs et les usagers des plans d'eau.

⁶ Anses, 2021. Évaluation des risques en appui des mesures de gestion de produits dans la filière bovine, lors de suspicion et de confirmation de cas de botulisme. Saisine n°2019-SA-0112. Maisons-Alfort : Anses. <https://hal-anses.archives-ouvertes.fr/anses-03792909>.

Anses, 2022. Évaluation des risques en appui des mesures de gestion de produits et sous-produits animaux dans la filière avicole, lors de suspicion et de confirmation des cas de botulisme. Saisine n°2019-SA-0114. Maisons-Alfort : Anses. <https://hal-anses.archives-ouvertes.fr/anses-03922620>.

⁷ Anses, 2022. Évaluation des risques relatifs aux mesures de décontamination et de gestion des sous-produits animaux lors des cas de botulisme bovin et aviaire. Saisine n°2019-SA-0113. Maisons-Alfort : Anses. <https://hal-anses.archives-ouvertes.fr/anses-04026651>.

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Janvier 2024) ».

L'expertise relève du domaine de compétences des comités d'experts spécialisés « Santé et bien-être des animaux » (CES SABA, pilote), « Substances et produits biocides » (CES BIOCIDES), « Évaluation des risques biologiques dans les aliments » (CES BIORISK) et « Eaux » (CES EAUX). L'Anses a confié l'instruction de cette saisine au groupe de travail « Botulisme faune sauvage », rattaché aux comités d'experts spécialisés (CES) SABA, BIORISK, EAUX et BIOCIDES.

Les travaux du GT s'appuient sur les données présentées dans le rapport d'expertise collective « *Clostridium botulinum* : mise à jour des connaissances sur les différentes formes des types C, D, mosaïques C/D et D/C et E »⁵. Ces données ont été actualisées en se fondant sur : (i) une recherche bibliographique récente, (ii) des données obtenues dans le cadre du projet AMI « botulisme faune sauvage »⁸ et (iii) les résultats d'une enquête menée par le GT auprès de quelques gestionnaires de plans d'eau situés en France et confrontés à des épisodes récurrents de botulisme.

Les travaux d'expertise du GT ont été présentés régulièrement aux CES (tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques) : SABA (les 10 mai 2022, 16 janvier 2024, 10 septembre 2024 et 25 mars 2025) ; BIORISK (les 18 mai 2022, 11 décembre 2023, 25 février 2025 et 26 mars 2025) ; EAUX (les 10 mai 2022, 6 février 2024 et 4 mars 2025) et BIOCIDES (29 février 2024 et 6 mars 2025). Ils ont été adoptés par le CES SABA réuni le 29 avril 2025. Le rapport produit par le GT tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres des CES. Ces travaux sont ainsi issus de collectifs d'experts aux compétences complémentaires.

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet : <https://dpi.sante.gouv.fr/>.

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DES CES SABA, BIORISK, EAUX, BIOCIDES ET DU GROUPE DE TRAVAIL

Les questions posées dans la présente saisine portent sur les risques pour la santé publique inhérents au développement de foyers de botulisme affectant l'avifaune sauvage en France. Les foyers de botulisme sont majoritairement identifiés dans les zones humides⁹ et autour des

⁸ Projet issu de l'appel à manifestation d'intérêt (AMI) - transversalités (financé par l'Anses en 2022 - 2023) « Approche *One Health* pour l'évaluation du risque lié au botulisme dans l'avifaune sauvage », coordonné par le laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort de l'Anses (Unité Hygiène et Qualité des Produits Avicoles et Porcins). Ce projet avait pour objectifs d'établir un état des lieux actualisé du botulisme en faune sauvage à travers les retours d'expérience des équipes travaillant sur le sujet au niveau mondial et d'évaluer le rôle de la contamination environnementale dans l'émergence et/ou le maintien d'épisodes de botulisme en faune sauvage.

⁹ Les zones humides (*wetlands* pour les anglo-saxons) sont définies selon l'article L211-1 du code de l'environnement (loi sur l'eau de 1992), comme « les terrains, exploités ou non, habituellement inondés ou gorgés d'eau douce, salée ou saumâtre de façon permanente ou temporaire, ou dont la végétation, quand elle existe, y est dominée par des plantes hygrophiles pendant au moins une partie de l'année ».

plans d'eau. L'expertise a été focalisée sur les plans d'eau douce continentaux¹⁰, étangs en particulier.

Les activités humaines en lien avec ces milieux englobent des pratiques traditionnelles telles que la pêche, la chasse et des loisirs touristiques et sportifs. Ces activités exposent les individus et les animaux domestiques qui les accompagnent à des dangers sanitaires, comme *C. botulinum* et les toxines botuliques qui font l'objet de cette saisine.

3.1. Éléments d'information sur le danger

Dans le contexte de cette saisine, le danger est représenté par les toxines botuliques et/ou les spores et/ou les formes végétatives de *C. botulinum*, notamment de type C/D¹¹ ou de type E.

C. botulinum est constitué d'un ensemble de souches bactériennes anaérobies, formant des spores et ayant la capacité de synthétiser de la toxine botulique. Les souches de *Clostridium* productrices de toxines botuliques sont classées aujourd'hui en six groupes (I à VI) en fonction de leurs caractéristiques biochimiques (notamment protéolytiques) et génétiques. Les souches sont aussi classées en fonction du type de toxine produite. Les toxines botuliques se divisent en neuf types (A à H et X) selon leurs propriétés immunologiques (voir Tableau 2 du rapport d'expertise).

Les souches de *C. botulinum* du groupe III, associées au botulisme aviaire, produisent des toxines C, D et leurs variants mosaïques C/D et D/C et sont souvent présentes dans des sols riches en matières organiques. Les écosystèmes aquatiques sont des milieux particulièrement favorables au développement des souches du groupe II, comme celles produisant la toxine E. Elles affectent principalement les poissons et les oiseaux aquatiques.

Les formes sporulées permettent aux souches de résister lorsque les conditions environnementales deviennent défavorables aux formes végétatives. Elles confèrent également une résistance aux procédés physiques ou chimiques mis en œuvre par exemple lors d'un traitement thermique ou d'une désinfection.

La maîtrise de la contamination des aliments par *C. botulinum* passe par l'action combinée de plusieurs mesures d'hygiène et de facteurs de maîtrise telles que la température, l'activité de l'eau¹², le pH, ou la teneur en sel. L'inactivation thermique des spores de *C. botulinum* a été bien étudiée pour les types A (groupe I), B (groupes I et II), et E. Les spores du groupe I sont les plus résistantes à la chaleur humide. Leur maîtrise par un procédé de type appertisation (121 °C, 3 min) permet également la maîtrise des spores des souches des autres groupes, en particulier celles du groupe III. Un traitement thermique de 90 °C pendant 10 min, ou des traitements équivalents, permet(tent) une inactivation d'au moins six réductions décimales des spores du groupe II.

La stabilité des toxines (plusieurs jours à plusieurs semaines) dépend de la matrice dans laquelle elles se trouvent, de la température et du pH. Ces toxines sont également sensibles à l'air, à la lumière solaire et aux enzymes protéolytiques. Les toxines des types C et D sont

¹⁰ Le terme continental est utilisé au sens de « relatif aux terres émergées ».

¹¹ La toxine C/D est très majoritairement incriminée dans les cas de botulisme répertoriés dans l'avifaune sauvage en France, notamment chez les anatidés où elle représente 96 % des cas identifiés. Les autres toxines produites par des *C. botulinum* du groupe III (C, D, et D/C) sont en revanche très rarement en cause. Les analyses effectuées dans les eaux et sédiments des plans d'eau marqués par le développement d'épisodes de botulisme y révèlent essentiellement la présence de *C. botulinum* C/D. *C. botulinum* de type E est aussi régulièrement détecté dans ces mêmes sites, alors que les épisodes aviaires de botulisme E y sont rares.

¹² L'activité de l'eau (aw) indique la disponibilité de l'eau d'un produit pour des réactions chimiques, biochimiques, un changement d'état ou un développement de micro-organismes.

plus résistantes à la chaleur que les toxines de types A, B et E. Si pour ces dernières un traitement de 2 min à 70 °C suffit pour les inactiver, il faut atteindre 90 °C pour obtenir le même résultat en 2 min sur les toxines C et D.

Lors d'un foyer de botulisme en faune sauvage, des biocides comme les désinfectants peuvent être utilisés pour la décontamination chimique du matériel de chasse ou de pêche et des plans de travail pour préparer le gibier chassé ou le poisson pêché. La chaux vive est parfois utilisée pour le traitement du sédiment après mise en assec (vidange suivie d'une période sans eau) de l'étang. Il n'existe cependant aucune étude qui montre son efficacité sur les spores de *C. botulinum*. À noter également que, bien que la chaux soit une substance biocide approuvée dans le cadre du règlement N° 528/2012 en tant que type de produit 2 (TP2)¹³ et type de produit 3 (TP3)¹⁴, son usage dans des sites naturels n'est pas couvert par la réglementation Biocides et est potentiellement dangereuse sur le plan environnemental.

3.2. Botulisme humain

Le botulisme humain est une maladie rare pouvant être létale (de 1 à 10 % de décès selon les formes cliniques). Il existe plusieurs formes de botulisme selon le mode de contamination et d'exposition à la toxine :

- le botulisme alimentaire résulte d'une intoxication par voie digestive due à la présence de la toxine préformée dans un aliment ;
- le botulisme intestinal est une toxi-infection due à l'ingestion de spores de *C. botulinum*, suivie d'une germination, multiplication des cellules végétatives dans l'intestin et production de toxine *in situ*. Le botulisme par toxi-infection peut être observé : (i) chez les nourrissons de moins de 12 mois en raison de leur flore intestinale incomplètement constituée ou incomplètement fonctionnelle (botulisme infantile) et (ii) chez des adultes présentant un déséquilibre du microbiote (par exemple : à la suite d'une chirurgie digestive, d'une dépression immunitaire, d'une antibiothérapie prolongée) (botulisme infectieux de l'adulte) ;
- le botulisme par blessure (ou d'inoculation) est une toxi-infection dont le mécanisme est identique à celui du tétanos. Les spores de *C. botulinum* peuvent contaminer les plaies, et en situation d'anaérobiose (cas d'une blessure profonde), la bactérie peut s'y développer et y produire de la toxine ;
- le botulisme par inhalation des toxines (forme très rare).

Le botulisme alimentaire et le botulisme infantile sont les deux formes les plus rencontrées chez les humains.

Entre 2008 et 2022, le botulisme alimentaire est la forme très majoritairement observée en France (78% des foyers sur la période). L'incidence annuelle moyenne du botulisme humain d'origine alimentaire est d'environ sept foyers / an et de 13 cas / an. Les toxines botuliques en cause sont des types A et B, occasionnellement E et F. Aucun foyer/cas de botulisme humain de type C, D ou mosaïques C/D et D/C n'a été recensé pendant cette période. Les produits les plus souvent impliqués sont des conserves et des produits de fabrication familiale ou

¹³ TP2 : désinfectants et produits algicides non destinés à l'application directe sur des êtres humains ou des animaux.

¹⁴ TP3 : désinfectants en hygiène vétérinaire.

artisanale. Les deux principales sources alimentaires sont le jambon cru et les conserves de légumes.

Les oiseaux, produits avicoles ainsi que les poissons ont rarement¹⁵ été impliqués comme sources de botulisme humain en France. Aucun cas ou foyer de botulisme de type E lié à des poissons élevés ou pêchés en France n'a été signalé durant la période 2008 - 2022. Les types toxiques C, D et mosaïques C/D et D/C de *Clostridium botulinum* présentent un caractère zoonotique, mais les cas de botulisme humain liés à ces toxines sont extrêmement rares. La faible sensibilité de l'être humain aux toxines C, D et mosaïques est l'hypothèse privilégiée pour expliquer la quasi-absence de cas liés à ces toxines.

3.3. Botulisme de la faune sauvage

3.3.1. Principales caractéristiques du botulisme dans l'avifaune sauvage

Le botulisme est une cause importante de mortalité pour l'avifaune sauvage, pouvant impacter la survie de certaines espèces menacées. Les épisodes botuliques affectant l'avifaune sauvage sont causés par les types C, D ou leurs variants mosaïques C/D et D/C, le type E et, très rarement, le type A. Les types C, D ou leurs variants sont détectés dans au moins une trentaine de pays sur tous les continents, et en particulier chez les oiseaux vivants dans les milieux aquatiques d'eau douce, estuariens ou côtiers. Les types E sont moins fréquents chez les oiseaux en Europe.

Le botulisme chez les oiseaux est le résultat de l'ingestion, soit de toxines préformées présentes dans l'environnement et/ou les aliments (intoxication), soit de bactéries (sous forme de spores et/ou de cellules végétatives), qui après avoir germé et proliféré dans le milieu intestinal, y produisent la toxine (toxi-infection). Les deux phénomènes pourraient coexister lors d'un épisode de botulisme.

Le botulisme aviaire provoque une paralysie flasque ascendante des muscles squelettiques chez les animaux, liée à l'effet de la toxine ingérée ou produite dans les *cæca*. Les signes cliniques peuvent aller d'une simple ataxie limitée aux ailes ou aux pattes affectant le mouvement jusqu'à une paralysie totale. La paralysie rend les oiseaux incapables de se déplacer et de s'alimenter, conduisant à une insuffisance respiratoire et/ou à une noyade. Aucune lésion spécifique n'est observée chez les oiseaux morts, mais certains peuvent présenter des lésions d'entérite, parfois hémorragique. Les oiseaux les moins gravement atteints peuvent surmonter la maladie s'ils continuent de s'alimenter et échappent à la prédation ou à la noyade.

Le traitement des individus atteints de botulisme pouvant être capturés associe antibiothérapie, supplémentation en vitamines, réhydratation intraveineuse et alimentation par sonde pendant au moins cinq jours (durée du traitement fonction de la dose de toxine ingérée, de l'espèce et de l'état d'avancement de la maladie chez les oiseaux). Il semble que la vaccination de ces oiseaux avant leur remise en milieu naturel contribuerait à l'acquisition d'une immunité protectrice. Des vaccins à base d'anatoxines ont été utilisés avec succès chez diverses espèces, notamment les oiseaux de proie, les canards et les faisans.

¹⁵ Entre 2008 et 2022, parmi les 50 foyers de botulisme alimentaire pour lesquels l'aliment a été identifié, deux sont en lien avec des produits avicoles (pâté de faisan de préparation familiale en 2015 et foie gras d'oie mi-cuit de préparation familiale en 2020) et un seul foyer est en lien avec du poisson fumé et séché (poisson blanc d'origine canadienne et acheté en Finlande). Hors période d'étude, en 2023, des préparations de sardines (sardines à l'huile en bocal) de fabrication artisanale distribuées dans un restaurant (mais dont la source initiale de *C. botulinum* n'a pas été déterminée) ont été à l'origine de cas groupés de botulisme.

La découverte d'un grand nombre d'oiseaux aquatiques morts ou malades, en particulier d'anatidés, dans des zones humides, à proximité de plans d'eau ou de zones côtières peut conduire à suspecter la présence de botulisme. Cette suspicion est renforcée lorsque ces événements surviennent pendant des étés chauds avec des faibles niveaux d'eau dans des sites connus pour le développement de la maladie. Il est toutefois nécessaire de valider une suspicion en la confirmant par des analyses de laboratoire. Au-delà de l'intérêt pour la surveillance, ces analyses, en identifiant le type toxinique, peuvent permettre de définir des mesures adaptées au risque pour les humains.

3.3.2.Principales caractéristiques du botulisme chez les espèces piscicoles

Le botulisme chez les poissons, principalement dû à la toxine botulique de type E, affecte aussi bien les écosystèmes aquatiques que les systèmes d'aquaculture. La maladie se traduit par une paralysie progressive des poissons, souvent fatale. Elle est généralement déclenchée par l'ingestion de toxines présentes dans les sédiments ou accumulées dans les proies infectées. Le diagnostic repose principalement sur l'identification des toxines botuliques dans les tissus ou les fluides des poissons atteints. En aquaculture, la mise en œuvre de mesures strictes de biosécurité et d'une gestion rigoureuse ont permis de réduire l'incidence de cette maladie, mais le botulisme reste un défi pour les écosystèmes naturels.

3.3.3.Botulisme chez les mammifères

Des mammifères sauvages ou domestiques vivant ou fréquentant les zones humides peuvent contracter le botulisme lors d'épisodes affectant les oiseaux sauvages.

Le ragondin est, parmi les mammifères sauvages semi-aquatiques présents dans ces sites, l'espèce la plus régulièrement identifiée comme atteinte de botulisme (botulisme de sous-type C/D en particulier). Le botulisme peut aussi toucher les chiens accompagnant des chasseurs ou des promeneurs sur un site contaminé et consommant des cadavres d'oiseaux. Les cas de botulisme C/D rapportés chez des chiens surviennent en cas d'ingestion de tout ou une partie de cadavres d'oiseaux infectés trouvés sur leur parcours.

3.3.4.Données épidémiologiques sur *C. botulinum* et le botulisme dans la faune sauvage et les milieux aquatiques en France

La croissance de *C. botulinum* dans les écosystèmes lenticques est influencée par divers facteurs et processus tels que : l'eutrophisation et ses conséquences sur la production de matière organique dans les étangs, les apports allochtones en matière organique, la dégradation de cette matière organique et ses conséquences sur les concentrations en oxygène dissous et les conditions météorologiques et leurs conséquences sur la température de l'eau, le brassage des sédiments, etc. Les épisodes de botulisme pourraient être également influencés par des espèces invasives, telles que la carpe et l'écrevisse de Louisiane, qui contribuent à la bioturbation (réarrangement physique des sédiments par le mouvement d'organismes vivants) et probablement à la remobilisation des spores de bactéries. Les oiseaux sont exposés à la bactérie en fonction de leurs comportement et régime alimentaires, et de la taille de leurs *cæca*.

En France, entre 2009 et 2019, une vingtaine de cas de botulisme aviaire ont été confirmés chaque année, affectant principalement des canards colverts. Ces chiffres sous-estiment probablement le nombre de foyers, du fait de l'absence régulière de demande de confirmation.

L'analyse des données du réseau SAGIR¹⁶ (2014-2023) montre une répartition géographique des cas sur tout le territoire, avec une concentration dans le nord-ouest, bien que la surveillance opportuniste par le réseau ne garantisse pas une couverture uniforme homogène sur tout le territoire. Les épisodes de botulisme aviaire sont principalement liés au sous-type C/D. Le type E a été détecté lors d'épisode de mortalité, principalement de manière concomitante avec le sous-type C/D. Le type E a toutefois été détecté une fois de manière isolée, lors d'un épisode de mortalité d'oiseaux à l'été 2023 sur un site qui n'avait pas fait l'objet de rapport d'analyse de cas de botulisme auparavant. Par ailleurs, la recherche de *C. botulinum* dans l'environnement des étangs avec un historique de botulisme de sous-type C/D montre la présence à la fois de *C. botulinum* de sous-type C/D et de type E. L'ensemble des résultats soulève la question de l'identification des facteurs (environnementaux ou autres) qui conditionnent les épisodes de botulisme aviaire de type E.

3.4. Réponses aux questions de la saisine

3.4.1. Évaluation de risque de botulisme pour la santé humaine

Le groupe de travail a procédé à l'évaluation des risques de botulisme encourus par des humains éventuellement exposés, soit en fréquentant un plan d'eau au cours d'un épisode de botulisme révélé par la mortalité d'oiseaux sauvages, soit en consommant du gibier d'eau ou des poissons prélevés sur le site au cours de cet événement. Cette évaluation correspond aux réponses aux questions 1 et 2 de la saisine.

Afin de tenir compte de l'historique des cas de botulisme détectés dans l'avifaune sauvage sur le territoire français et du résultat des recherches menées ces dernières années dans différents sites déjà touchés par des épisodes de botulisme, l'analyse du GT a été ciblée sur le risque induit par le développement d'un épisode de botulisme C/D ou de botulisme E affectant des oiseaux d'eau séjournant sur un plan d'eau douce. Pour chaque type ou sous-type de *C. botulinum* pris en compte, le danger est représenté par la bactérie (sous forme végétative ou sporulée) ou la neurotoxine dont dépend le développement du botulisme selon la sensibilité de l'espèce cible considérée.

Limitée par le manque de données quantitatives disponibles (concentrations du danger dans les différentes matrices non déterminées, méconnaissance des doses nécessaires au développement de la maladie, etc.), l'analyse a été abordée de façon qualitative et les évaluations reposent en grande partie sur les avis rendus collectivement par les experts du GT.

Paramètres pris en compte et méthodologie de l'évaluation

Un schéma événementiel centré sur le plan d'eau où se déroule l'épisode de botulisme (de type C/D ou de type E), a servi de guide pour identifier les sources de contamination, les voies et modalités de contamination des humains exposés et les formes de botulisme humain qui peuvent en découler (Figure 1).

¹⁶ Le réseau SAGIR est le réseau de surveillance événementielle des causes de mortalités dans la faune sauvage en France.

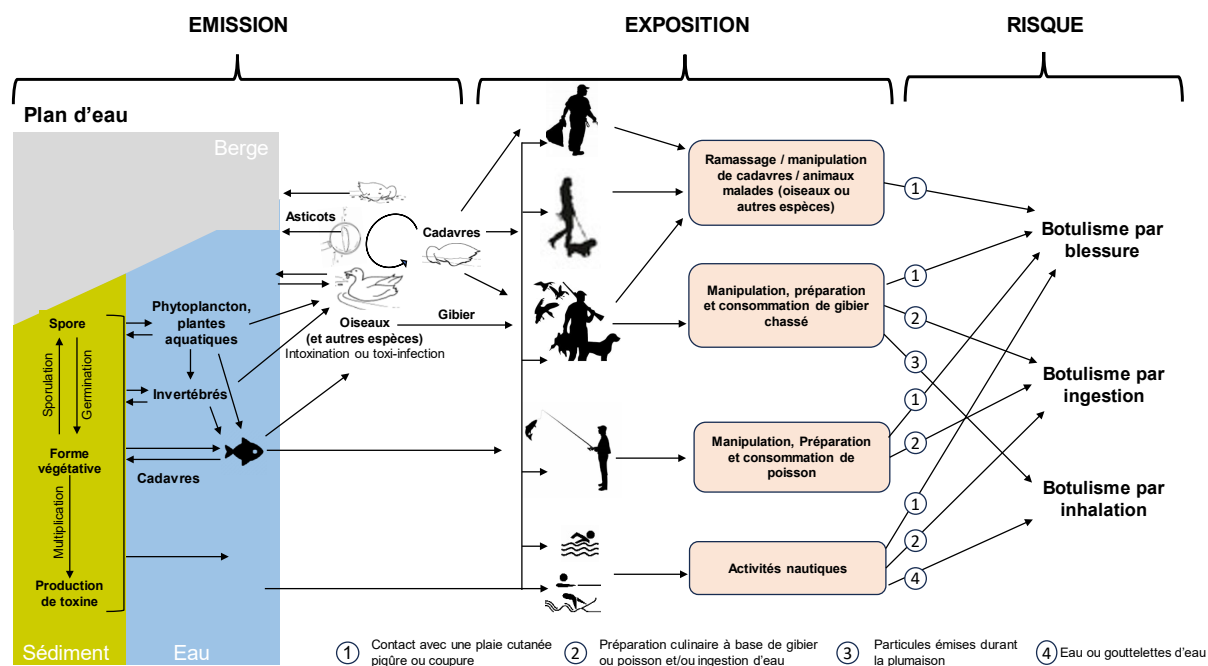


Figure 1. Schéma événementiel des sources de contamination, des voies de circulation de *C. botulinum* et des situations pouvant conduire, sur un plan d'eau reconnu contaminé, au développement de cas de botulisme humain.

Les flèches représentent les voies de cheminement possibles du danger (spore, forme végétative ou toxine) au sein et depuis l'environnement contaminé jusqu'aux humains exposés (sans quantification du poids de ces voies dans la contamination).

Les sources de contamination retenues en fonction des questions de la saisine sont les matrices environnementales du site (sédiment et eau) ainsi que les téguments et tissus du gibier d'eau et des poissons.

L'analyse du GT ne prend pas en compte la probabilité d'émergence d'un épisode botulique C/D ou E sur le territoire français, mais concerne tout site dans lequel l'observation d'une mortalité d'oiseaux peut correspondre à un épisode de botulisme C/D ou E. Le GT a procédé, pour chacun des types toxiques considérés, à une évaluation qualitative de la probabilité de présence (ou d'émission) du danger (spore, forme végétative ou toxine) dans les matrices prises en compte, tout en considérant le statut clinique du gibier d'eau et des poissons (animaux porteurs asymptomatiques cutanés et/ou digestifs, ou présentant des signes cliniques).

Les probabilités de présence du danger ont été estimées par les experts et réparties en trois niveaux, exprimés de la façon suivante : « - » « + » ou « ++ » (voir Tableau 8 du rapport d'expertise). Ces niveaux sont principalement attribués en fonction de la fréquence de détection du danger dans les matrices prises en compte, et rarement en fonction des concentrations présentes (généralement non déterminées). Ils expriment donc la probabilité de présence sans prendre en compte une dose infectieuse ou toxique constituant un risque pour des humains exposés.

Les niveaux attribués à la probabilité de présence sont comparables pour les deux toxotypes (C/D et E). Les niveaux les plus élevés (« ++ »), associés aux probabilités de présence de la bactérie et des toxines, ont été attribués aux cadavres de poissons et d'oiseaux ainsi qu'au contenu du tube digestif des poissons et des oiseaux atteints de botulisme. Le niveau le plus élevé (« ++ ») pour la présence de spores a également été attribué au foie des oiseaux

malades, au contenu digestif des poissons éventuellement porteurs (sans signes cliniques), et aux sédiments du site. Le GT est parti en outre du principe que le gibier chassé et les poissons pêchés pour être consommés avaient un comportement normal et ne présentaient aucun signe visible de maladie (animaux asymptomatiques).

Trois voies possibles de contamination ont été recensées : cutanée, respiratoire et digestive. Elles conditionnent la forme de botulisme susceptible de se déclarer chez une personne contaminée : botulisme par blessure, botulisme d'inhalation, botulisme alimentaire et botulisme infectieux de l'adulte.

Enfin, le GT a déterminé les situations les plus à risque auxquelles pouvaient être exposés les humains (populations cibles) et évalué, dans ces situations, les probabilités de survenue du botulisme, dans le cas d'une exposition sur site ou résultant de la préparation des poissons ou des gibiers issus de ce site. Le GT a évalué qualitativement ces probabilités de survenue en fonction de la probabilité de présence du danger dans les matrices auxquelles elles sont exposées, de la voie d'entrée du danger (qui conditionne la forme de botulisme éventuellement contractée) et de la prise en compte des conditions et mesures propres à maîtriser le danger. Ces évaluations sont globales et fondées sur les avis des experts du GT.

Dans le cas de la consommation des aliments issus des prises à la chasse ou à la pêche, le GT a considéré ne pas pouvoir évaluer la probabilité de survenue de botulisme alimentaire en raison du manque de données quantitatives sur la contamination initiale des matières premières (prises de chasse ou de pêche), ainsi que sur les pratiques de conservation et de consommation de ces matières premières par les chasseurs et les pêcheurs. Le GT a toutefois évalué l'effet de certains modes de transformation et de conservation des aliments sur l'évolution de *C. botulinum* afin de déterminer les conditions et les mesures nécessaires pour maîtriser le danger et donc le risque.

Risques associés aux activités humaines autour d'un plan d'eau

Le type d'activité sur site conditionne le mode et le degré d'exposition aux sources environnementales (eau ou sédiment) ou animales précédemment mentionnées. Les activités à risque ciblées dans cet avis sont essentiellement les activités de loisir, représentées par la chasse, la pêche, le tourisme de nature (promenades, observations d'oiseaux, etc.) et, dans certains plans d'eau, la baignade et autres activités nautiques. Le risque lié à la collecte des cadavres dans un cadre professionnel, principal moyen préconisé pour limiter les épisodes de botulisme chez les oiseaux, a été aussi analysé (Annexe 1).

Les activités de promenade, pêche, chasse ou les interventions dans le cadre de la gestion du site contaminé exposent au danger dès lors que les personnes qui s'y livrent ont un contact cutané avec le milieu (eau et sédiment en particulier) ou saisissent un animal chassé ou pêché dont les téguments sont souillés par des spores et/ou la toxine, un oiseau malade ou un cadavre. À cet égard, il faut rappeler que ni la bactérie, ni la toxine n'ont la capacité de traverser la peau saine. Le botulisme survient en présence d'une blessure profonde associée à la pénétration de spores C/D ou E dans les tissus. En effet, une blessure profonde contaminée peut créer des conditions d'anaérobiose permettant la germination des spores de *C. botulinum* et la production de toxine. Cependant, la probabilité qu'un tel événement survienne lors de ces activités est extrêmement faible. En effet, les blessures éventuellement occasionnées lors de ces activités, en général superficielles, sont peu compatibles avec le développement d'un cas de botulisme par blessure. Ainsi, les experts du GT estiment peu probable la survenue de cas de botulisme par blessure, quelle que soit l'activité considérée.

Par ailleurs, les faibles quantités de toxine susceptibles d'être présentes dans l'eau des sites de baignade (niveau « - » qualifiant la probabilité de présence de toxine C/D ou E) ne permettent pas d'envisager un risque en cas d'ingestion d'eau. Ainsi les experts estiment peu probable la survenue de cas de botulisme lors des baignades et activités nautiques, y compris lors de l'émergence d'un épisode de botulisme E sur le plan d'eau.

Le bilan de l'analyse conduite par le GT fait apparaître un risque très limité pour les usagers du plan d'eau en cas de développement d'un épisode de botulisme C/D ou de botulisme E dans la faune sauvage, quel que soit le toxinotype de *C. botulinum* en cause (C/D ou E). Ce risque peut être en outre maîtrisé par le respect de consignes simples, telles que le port de vêtements de protection pour les personnes les plus exposées (par exemple : chasseurs, pêcheurs et personnels chargés de la collecte des cadavres d'oiseaux ou des poissons ou de mammifères) et l'application des mesures d'hygiène individuelles pour les populations concernées (Annexe 1).

Risques alimentaires découlant des activités de pêche ou de chasse

Concernant le risque de botulisme alimentaire découlant des activités de pêche ou de chasse, la situation la plus à risque résulte de la consommation de préparations à base de poissons ou de gibier d'eau contenant de la toxine botulique (préparations crues ou insuffisamment cuites puis mal conservées). Le risque de botulisme alimentaire peut toutefois être maîtrisé par l'application des mesures usuelles de traitement et de conservation (mesures d'hygiène lors de la préparation des aliments, traitement thermique, respect de la chaîne du froid et/ou de la durée de conservation des produits).

Un point de vigilance doit être porté pour la consommation crue des poissons (*ceviche*, marinade, etc.) qui doit être évitée en cas de suspicion de cas de botulisme de type E dans le plan d'eau où ont été pêchés les poissons consommés.

En outre, le risque de botulisme alimentaire est limité à l'échelle nationale du fait de la faible toxicité pour l'humain de la toxine C/D, plus fréquemment impliquée dans les foyers en avifaune sauvage que le type E dont l'impact chez les poissons vivants dans les plans d'eau correspondants est inconnu.

Les situations les plus à risque retenues par les experts et les propositions de mesures de réduction du risque sont détaillées dans l'Annexe 1.

3.4.2.Recommandations pour limiter un épisode de botulisme et le risque pour la santé humaine

Les experts du GT ont évalué les mesures pouvant limiter les épisodes de botulisme et leurs conséquences en santé publique afin de répondre à la question 3 de la saisine.

Une revue des mesures de gestion applicables sur le terrain pour prévenir ou limiter les épisodes de botulisme dans l'avifaune sauvage est présentée dans le Chapitre 5 du rapport d'expertise.

Durant les périodes critiques (mi-juillet à début octobre), dans les sites à risque élevé de botulisme (ayant déjà rencontré des épisodes de botulisme), les mesures les plus couramment documentées et appliquées, associent un suivi régulier des populations d'oiseaux, la recherche des causes de mortalité éventuellement détectées, ainsi que la collecte et la destruction des cadavres d'oiseaux. D'autres actions susceptibles de limiter le développement

de l'épizootie sont également envisageables, par exemple la régulation du niveau d'eau. Cependant, ces actions ne peuvent être envisagées que sur la base d'une très bonne connaissance du site ou d'expériences acquises lors d'épisodes de botulisme antérieurs. Elles ne peuvent relever que d'une gestion au cas par cas, s'appuyant sur une enquête pour en identifier les causes, et d'une analyse bénéfice-risque pour l'environnement. En revanche, le chaulage des zones où les cadavres ont été trouvés, dont l'efficacité est non documentée dans ce contexte et n'ayant pas fait l'objet d'une demande d'autorisation dans le cadre du règlement Biocides (règlement (UE) N° 528/2012), n'est pas recommandé par le GT

Considérant les difficultés rencontrées pour prévenir ou limiter les épisodes de botulisme C/D ou E affectant la faune sauvage dans les espaces naturels, et tout en rappelant qu'aucun cas de botulisme humain n'a été détecté jusqu'à présent en France en cas d'épisode de botulisme dans la faune sauvage, les experts recommandent :

concernant les actions à mettre en place pour limiter les épisodes de botulisme dans la faune sauvage de :

- maintenir ou renforcer la surveillance du botulisme dans la faune sauvage en cas de mortalités groupées. À noter que celle-ci peut être facilitée par le maintien de l'inscription de cette maladie dans la liste des maladies animales réglementées d'intérêt national. Le GT rappelle que la mise en pratique de cette surveillance est actuellement limitée par la problématique de prise en charge financière des analyses ;
- rappeler aux gestionnaires de plans d'eau, l'importance du suivi de la mortalité (poissons, oiseaux, mammifères) et de l'investigation de sa cause ainsi que l'importance de l'enlèvement et de la destruction des cadavres (de préférence par équarrissage) dans le cadre de la gestion préventive et curative des épisodes de botulisme ;
- sensibiliser les usagers des plans d'eau à l'existence du botulisme dans les zones humides et à ses principales manifestations dans la faune sauvage afin qu'ils puissent contribuer le plus efficacement possible à la surveillance ;
- inclure dans les plans de gestion des sites dans lesquels des épisodes de botulisme sont régulièrement observés, un suivi et un enregistrement des paramètres hydrologiques et/ou écologiques intervenant dans l'émergence du botulisme (par exemple : niveau de l'eau, temps de résidence de l'eau, température de l'eau couplée au suivi de variables météorologiques, turbidité, conductivité, oxygène dissous, pH, potentiel redox, phosphore et azote dissous et particuliers, chlorophylle-a, abondance des espèces animales et végétales endémiques ou exotiques, etc.)

concernant les actions visant à préserver la santé publique à mettre en place lors d'un épisode de botulisme dans la faune sauvage de :

- informer les usagers des sites de la survenue d'un foyer, des risques encourus et des mesures à respecter pour les prévenir ;
- sensibiliser les chasseurs et les pêcheurs aux bonnes pratiques relatives à la conservation et la préparation des aliments pour maîtriser le risque de botulisme alimentaire ;

- rappeler aux personnes participant à la collecte des cadavres d'animaux (poissons, oiseaux, mammifères) de la nécessité du port d'équipements de protection individuelle.

3.4.3. Autres recommandations

En matière de recherche scientifique, les experts recommandent les actions suivantes :

- poursuivre les études portant sur l'identification des facteurs de risque écologiques et anthropiques et des mécanismes d'émission du danger et d'exposition des oiseaux conduisant à la survenue d'un épisode de botulisme aviaire en faune sauvage. En particulier, comprendre la cinétique de germination, multiplication, sporulation et toxinogénèse des souches de types C/D et E dans le tube digestif des oiseaux, notamment en relation avec leur alimentation, leur microbiote digestif et les conditions environnementales ;
- investiguer les sites associés aux épisodes de botulisme E dans l'avifaune sauvage, afin de mieux comprendre les conditions favorables à la croissance de *C. botulinum* E et ainsi mieux évaluer les risques en santé humaine qui en découlent ;
- élargir les analyses à d'autres espèces que les oiseaux (par exemple poissons, invertébrés et mammifères semi-aquatiques) et étudier leur rôle possible dans les épisodes de botulisme aviaire ;
- évaluer les effets des lâchers de gibiers vaccinés contre le botulisme sur le risque de dissémination de la bactérie et dans la prévention des épisodes de botulisme ;
- investiguer davantage les modalités d'inactivation thermique des spores et toxines des différents types de *C. botulinum* ou de bactéries modèles fiables.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail endorse les conclusions des CES SABA, BIOCIDES, BIORISK et EAUX et du GT « Botulisme faune sauvage ».

Bien qu'aucun cas de botulisme humain n'ait été rapporté en relation avec des activités pratiquées sur des plans d'eau, l'Agence rappelle qu'il est essentiel de tout mettre en œuvre pour limiter l'étendue, dans le temps et l'espace, des épisodes de botulisme dans la faune sauvage. Cela passe par une gestion au cas par cas de ces épisodes, sur la base d'une détection effective et précoce et d'une très bonne connaissance des sites, notamment ceux qui présentent des caractéristiques favorables à l'émergence des épisodes de botulisme.

Cependant, une dérèglementation du botulisme animal (maladie actuellement incluse dans la liste provisoire des maladies d'intérêt national) soulèverait la question de la surveillance du botulisme dans la faune sauvage, de la détectabilité des épisodes et de la mise en œuvre de mesures de gestion à l'avenir, en particulier pour le type E, à risque pour la santé publique.

L'Agence souligne également la nécessité de sensibiliser les populations concernées (usagers des plans d'eau, préparateurs et consommateurs des aliments issus des prises à la chasse ou la pêche) sur les mesures à respecter pour prévenir le risque de botulisme humain.

Enfin, l'Agence recommande la mise en place de projets de recherche dans l'objectif de générer des données sur la présence de *C. botulinum* de type E et mosaïque C/D dans les

différents compartiments des plans d'eau ayant déjà été touchés par des épisodes de botulisme. Ces travaux viseraient principalement à mieux comprendre les mécanismes conduisant à la survenue d'un épisode de botulisme aviaire en faune sauvage.

Pr Benoît Vallet

MOTS-CLÉS

Botulisme, *C. botulinum*, faune sauvage, santé publique, évaluation qualitative de risque.

Botulism, C. botulinum, wildlife, public health, qualitative risk assessment.

CITATION SUGGÉRÉE

Anses. (2025). Avis relatif à l'évaluation des risques et aux mesures de gestion de cas de botulisme dans la faune sauvage. Saisine 2019-SA-0113. Maisons-Alfort : Anses, 18 p. Cet avis est associé à un rapport d'expertise collective.

ANNEXE 1. SITUATIONS À RISQUE POUR LES HUMAINS PRATIQUANT DES ACTIVITÉS SUR PLAN D'EAU DOUCE OÙ UN EPISODE DE BOTULISME DE SOUS-TYPE C/D OU DE TYPE E EST SUSPECTÉ OU AVÉRÉ ET PROPOSITIONS DE MESURES DE RÉDUCTION DU RISQUE.

Activité	Situation à risque		Événement indésirable	Mesures de réduction du risque
Pêche et consommation de poissons d' eau douce	Contact cutané avec l'eau ou des poissons au cours de la pêche	Inoculation de la bactérie (Blessure)	Botulisme par blessure	Port de vêtements imperméables type <i>waders</i> pour les pêches itinérantes impliquant d'entrer dans l'eau. Éviter de plonger ses mains dans l'eau de l'étang et procéder à un lavage à l'eau claire, une désinfection classique de la plaie et la pose d'un pansement adhésif. Toute plaie préalable sur les mains fera l'objet du même traitement. Adapter ses pratiques halieutiques pour minimiser le risque de blessures/coupures lors de la manipulation des prises (et d'écourter ce temps de manipulation) : selon les pratiques, l'usage d'épuisettes à maille caoutchoutées, de pinces à bec long ou de pinces adaptées pour le décrochage des hameçons pour diminuer le risque de blessures par contact (coupures de la main par la dentition du brochet commun). Port de gants et de tenues de protection si exposition importante (pêche de sauvetage par exemple).
	Contact cutané avec des poissons lors de leur préparation (écaillage, (éviscération, levée des filets...) en vue de les consommer			Lavage soigneux de la plaie à l'eau claire et désinfection. Limiter le risque de coupure par le port de gants, l'emploi d'un couteau bien aiguisé. Limiter le risque de contamination par un lavage régulier du couteau à l'eau propre. Privilégier l'utilisation de désinfectants sporicides pour décontaminer les ustensiles utilisés ainsi que le plan de travail.
	Consommation de poissons pêchés d'apparence normale : - poissons sains porteurs digestifs - poisson en phase préclinique de botulisme E	Ingestion de toxine : lors d'une consommation de filets de poissons crus (marinade, <i>ceviche</i>) ou fumés à froid ou lors d'une consommation d'un aliment à base de chair de poisson dont les modalités de préparation, les températures de conservation et/ou de cuisson sont favorables à la production de la toxine et/ou ne permettent pas son inactivation)	Botulisme alimentaire	Éviter la consommation de poissons dans ces plans d'eau et privilégier les pêches de gracieuse (<i>no-kill, catch and release</i>) avec relâche immédiate du poisson sur site. Si volonté de consommation : - éviter les préparations crues (<i>ceviche</i> , poisson fumé à froid, etc.) ; - respecter les prescriptions d'hygiène relatives à la préparation du poisson, aux températures de conservation et/ou de cuisson, à savoir : - nettoyer et éviscérer les poissons le plus tôt possible (généralement dans les deux heures qui suivent la session de pêche) en évitant de souiller les parties consommables avec du contenu digestif ; - réfrigérer ou congeler les poissons en attendant de les cuisiner ou de les transformer ; - cuisson à température suffisante pour détruire la toxine (voir § 4.5.3.3.1 du rapport) ; - respect des barèmes de stérilisation des conserves (voir § 4.5.3.3.2 du rapport) ; - consommation rapide puis application rigoureuse d'une chaîne du froid sur les restes du repas (4 °C) et consommation de ceux-ci dans les trois jours.

Activité	Situation à risque		Événement indésirable	Mesures de réduction du risque
Chasse et consommation de gibier d' eau à plumes	Contact cutané avec l'eau ou des oiseaux au cours de la chasse	Inoculation de la bactérie (blessure)	Botulisme par blessure	Éviter de plonger ses mains dans l'eau de l'étang et procéder à un lavage à l'eau claire, une désinfection classique de la plaie et la pose d'un pansement adhésif. Toute plaie sur les mains préalables fera l'objet du même traitement. Port d'équipement adapté à la chasse au gibier d'eau (bottes en caoutchouc, <i>waders</i> , vêtements imperméables et gants).
	Contact cutané avec des oiseaux chassés lors de leur préparation (découpe, éviscération) en vue de les consommer			Lavage soigneux de la plaie à l'eau claire et désinfection. Limiter le risque de coupure par le port de gants, l'emploi d'un couteau bien aiguisé. Limiter le risque de contamination par un lavage régulier du couteau à l'eau propre. Privilégier l'utilisation de désinfectants sporicides pour décontaminer les ustensiles utilisés ainsi que le plan de travail.
	Consommation de gibier d'apparence normale : - oiseau sain porteur digestif - oiseau en phase préclinique de botulisme	Ingestion de toxine (limité au cas d'une consommation d'un aliment à base de viande de gibier d'eau dont les modalités de préparation, de conservation et/ou une cuisson à température insuffisante sont favorables à la production de la toxine et/ou ne permettent pas son inactivation)	Botulisme alimentaire	Respect des prescriptions d'hygiène relatives à la préparation du gibier, aux températures de conservation et/ou de cuisson à savoir : - récupérer l'oiseau tiré le plus précocement possible (1-15 min suivant le tir) ; - préparer l'oiseau chassé (plumaison + éviscération), le plus précocement possible (idéalement dans les cinq heures après le tir), en évitant de souiller les parties consommables avec du contenu digestif ; - réfrigérer ou congeler le gibier en attendant de le cuisiner ou de le transformer ; - cuisson à température suffisante pour détruire la toxine (voir § 4.5.4.4.1 du rapport) ; - respect des barèmes de stérilisation des conserves (voir § 4.5.4.4.2 du rapport) ; - consommation rapide puis application rigoureuse d'une chaîne du froid sur les restes du repas (4 °C) et consommation de ceux-ci dans les trois jours.
Promenade	Contact cutané avec oiseau mort ou moribond	Inoculation de la bactérie (blessure)	Botulisme par blessure	Ne pas toucher l'animal, repérer précisément son emplacement et prévenir le gestionnaire du plan d'eau.

Activité	Situation à risque		Événement indésirable	Mesures de réduction du risque
Baignade et activités nautiques	Ingestion d'eau	Ingestion de la toxine	Botulisme alimentaire	Éviter la baignade dans les plans d'eau lors d'un épisode de botulisme.
Enlèvement des cadavres	Contact cutané avec les cadavres	Inoculation de la bactérie (blessure)	Botulisme par blessure	Port de protections vestimentaires (gants étanches, combinaison et bottes). Respect des règles d'hygiène classiques telles que se laver systématiquement les mains après contact avec les animaux, l'eau ou les sédiments. Traiter (laver, savonner et rincer à l'eau potable) et protéger les plaies (recouvrir d'un pansement imperméable). Manipulation sécurisée, en particulier pour éviter tout contact direct avec les cadavres en décomposition (utilisation d'outils pour ramasser les oiseaux).

Évaluation des risques et mesures de gestion de cas de botulisme dans la faune sauvage

Saisine n° 2019-SA-0115 (botulisme faune sauvage)
Saisines liées : n° 2019-SA-0112 à 0115 (rapport socle botulisme)
n°2019-SA-0112 (filière bovine)
n°2019-SA-0113 (botulisme décontamination)
n°2019-SA-0114 (filière avicole)

RAPPORT d'expertise collective

Comité d'experts spécialisé « Santé et bien-être des animaux »

Groupe de travail « Botulisme faune sauvage »

Avril 2025

Citation suggérée

Anses. (2025). Évaluation des risques et mesures de gestion de cas de botulisme dans la faune sauvage. (saisine 2019-SA-0115). Maisons-Alfort : Anses, 160 p.

Mots clés

Botulisme, *C. botulinum*, faune sauvage, santé publique, évaluation qualitative de risque.

Botulism, C. botulinum, wildlife, public health, qualitative risk assessment.

Présentation des intervenants

PRÉAMBULE : les experts membres de comités d'experts spécialisés, de groupes de travail ou désignés rapporteurs sont tous nommés à titre personnel, *intuitu personae*, et ne représentent pas leur organisme d'appartenance.

GROUPE DE TRAVAIL

Président

Jean-Pierre GANIÈRE – Professeur retraité, École Nationale Vétérinaire de Nantes (Oniris) – Microbiologie, biocides, maladies réglementées, évaluation des risques.

Membres

Olivier CARDOSO – Chargé d'études en écotoxicologie, direction de la recherche et de l'appui scientifique, Office français de la biodiversité (OFB) – Écotoxicologie aquatique, faune sauvage, pratiques de pêche.

Michel FEDERIGHI – Professeur en Santé publique vétérinaire et sécurité microbiologique des aliments, École nationale vétérinaire d'Alfort (ENVA) – Microbiologie, hygiène et qualité des aliments, analyse des dangers microbiologiques.

Matthieu FOURNIER – Maître de conférences HDR, Université de Rouen, UMR CNRS M2C 6143 – Hydrogéologie, transfert des contaminants dans les hydro-systèmes.

Philippe FRAVALO – Professeur, Conservatoire national des arts et métiers (CNAM) – Hygiène et microbiologie des aliments, méthodes de détection, de quantification et de caractérisation des micro-organismes, écologie des écosystèmes microbiens en agro-alimentaire.

Sophie LE BOUQUIN-LENEVEU – Cheffe d'unité adjointe, unité Épidémiologie, Santé et Bien-être (EPISABE), Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, Anses – Épidémiosurveillance, observations épidémiologiques en aviculture, pathologies en élevage - inspection vétérinaire.

Caroline LE MARÉCHAL-CONDY – Responsable du LNR botulisme aviaire, Unité d'hygiène et qualité des produits avicoles et porcins (HQPAP), Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, Anses – Botulisme aviaire et bovin, bactériologie, microbiologie.

Laurent MOULIN – Responsable recherche et développement, Eau de Paris – Microbiologie, virologie, traitement de l'eau.

Ariane PAYNE – Vétérinaire épidémiologiste, direction de la recherche et de l'appui scientifique, OFB – Interface faune sauvage-faune domestique.

Céline RICHOMME – Chargée de projets scientifiques, Laboratoire de la rage et la faune sauvage de Nancy, Anses – Épidémiologie, faune sauvage, interface faune sauvage-animaux domestiques, écologie.

COMITÉS D'EXPERTS SPÉCIALISÉS

Les travaux, objets du présent rapport ont été suivis et adoptés par les CES suivants :

■ CES « Santé et bien-être des animaux » (SABA)

Président

Gilles MEYER – Professeur, École Nationale Vétérinaire de Toulouse – Virologie, immunologie, vaccinologie, maladies des ruminants.

Membres

Xavier BAILLY – Ingénieur de Recherche, INRAE Saint Genes Champanelle – Épidémiologie moléculaire, écologie de la santé, épidémiologie-surveillance, modélisation, bactériologie.

Catherine BELLOC – Professeur, Oniris - École Vétérinaire de Nantes – Infectiologie, approche intégrée de la santé animale, maladies des monogastriques.

Stéphane BERTAGNOLI – Professeur, École Nationale Vétérinaire de Toulouse – Virologie, immunologie, vaccination, maladies des lagomorphes.

Alain BOISSY – Directeur de Recherche INRAE Clermont-Ferrand - Theix – Bien-être animal.

Séverine BOULLIER – Professeur, École Nationale Vétérinaire de Toulouse – Immunologie, vaccinologie.

Henri-Jean BOULOUIS – Professeur retraité, École Nationale Vétérinaire d'Alfort – Bactériologie, diagnostic de laboratoire, immunologie, vaccinologie.

Aurélie COURCOUL – Directrice de la Recherche et des Études Doctorales, Oniris – École Vétérinaire de Nantes – Épidémiologie, appréciation des risques (modélisation), réglementation.

Alice DE BOYER DES ROCHES – Maître de conférences, VetAgro Sup – Bien-être animal, animaux de rente, douleur, comportement, zootechnie.

Barbara DUFOUR – Professeur émérite, École Nationale Vétérinaire d'Alfort – Épidémiologie, maladies infectieuses, analyse du risque, zoonoses, lutte collective.

Emmanuelle GILOT-FROMONT – Professeur, VetAgro Sup – Épidémiologie quantitative, évaluation de risque, interface faune sauvage-animaux domestiques, maladies réglementées.

Étienne GIRAUD – Chargé de recherche, INRAE Toulouse – Microbiologie, antibiotiques, antibiorésistance, environnement, écologie microbienne.

Lionel GRISOT – Vétérinaire praticien – Médecine vétérinaire, médicament vétérinaire, maladies des ruminants.

Claire GUINAT – Chargée de recherche, INRAE Toulouse – Épidémiologie, génétique (analyses phylodynamiques), maladies infectieuses.

Nadia HADDAD – Professeur, École Nationale Vétérinaire d'Alfort – Infectiologie, maladies réglementées, zoonoses.

Karine HUBER – Directrice de recherche, INRAE – Entomologie médicale et vétérinaire, maladies vectorielles, épidémiologie.

Elsa JOURDAIN – Chargée de recherche, INRAE Clermont-Ferrand - Theix – Zoonoses, épidémiologie, interface faune sauvage-animaux domestiques.

Hervé JUIN – Ingénieur de recherches, INRAE Centre Poitou-Charentes – Bien-être animal, physiologie et nutrition des volailles.

Sophie LE BOUQUIN-LENEVEU – Cheffe d'Unité Adjointe, Unité Épidémiologie, Santé et Bien-Être, Anses Ploufragan-Plouzané-Niort – Épidémiologie, évaluation de risque, approche intégrée de la santé animale.

Caroline LE MARÉCHAL – Chargée de projet, Responsable LNR Botulisme aviaire, Unité HQPAP, Anses Ploufragan-Plouzané-Niort – Bactériologie, diagnostic de laboratoire, zoonose, botulisme aviaire, clostridies.

Sophie LE PODER – Maître de conférences, École Nationale Vétérinaire d'Alfort – Virologie, immunologie, vaccinologie.

Yves MILLEMANN – Professeur, École Nationale Vétérinaire d'Alfort – Pathologie des ruminants, infectiologie, antibiorésistance, médicament vétérinaire.

Pierre MORMÈDE – Directeur de recherche émérite INRAe – Bien-être animal, stress.

Carole PEROZ – Maître de conférences, VetAgro Sup – Infectiologie, maladies réglementées, approche intégrée de la santé animale.

Claire PONSART – Chef de l'unité des zoonoses bactériennes, Laboratoire de Santé Animale, Anses Maisons-Alfort – Bactériologie, zoonoses, diagnostic de laboratoire.

Céline RICHOMME – Chargée de projets scientifiques, Anses-Laboratoire de la rage et la faune sauvage de Nancy – Épidémiologie, faune sauvage, interface faune sauvage-animaux domestiques, écologie.

Claude SAEGERMAN – Professeur, Faculté de Médecine vétérinaire de l'Université de Liège – Épidémiologie, évaluation de risque.

Jean-François VALARCHER – Professeur, *Swedish university of agricultural sciences* (SLU) – Pathologie des ruminants, infectiologie, Immunologie, épidémiologie.

Isabelle VALLÉE – Chef de l'unité BIPAR, Responsable LNR Parasites transmis par les aliments, Anses Maisons-Alfort – Parasitologie, zoonoses, immunologie, diagnostic.

Agnès WARET-SZKUTA – Maître de conférences, École Nationale Vétérinaire de Toulouse – Pathologie porcine, épidémiologie.

Natacha WORONOFF-REHN – Directrice, laboratoire vétérinaire départemental du Doubs – Infectiologie, parasitologie immunologie, biologie moléculaire, diagnostic.

■ CES « Évaluation des risques biologiques liés aux aliments » (BIORISK)

Président

Philippe FRAVALO – Professeur, Conservatoire National des Arts et Métiers – Microbiologie des aliments, filières viandes, dangers bactériens, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Listeria monocytogenes*, méthodes (dont métagénomique 16S des contenus digestifs et des surfaces, caractérisation moléculaire des dangers), élevage / abattage.

Membres

Frédéric AUVRAY – Ingénieur de recherche, École nationale vétérinaire de Toulouse – Microbiologie des aliments et écologie microbienne, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, bactéries pathogènes zoonotiques, microbiote, bactériophages, diagnostic microbiologique et séquençage de génomes.

Mickaël BONI – Vétérinaire en chef, chef d'unité, Institut de recherche biomédicale des armées – Microbiologie, hygiène, salubrité et qualité des aliments, sûreté sanitaire des aliments et de l'eau, inspection en sécurité sanitaire des aliments, traitement et contrôle sanitaire des EDCH, épidémiologie des eaux usées.

Frédéric BORGES – Maître de conférences, Université de Lorraine – *Listeria*, génie génétique, biopréservation, écosystèmes alimentaires fermentées, génotypage, phénotypage, HACCP.

Gilles BORNERT – Vétérinaire en chef, Service de santé des armées de Rennes – Microbiologie des aliments et des eaux, écologie microbienne, réglementation, sécurité sanitaire des aliments, HACCP, filière eau et restauration collective.

Frédéric CARLIN (jusqu'en mars 2023) – Directeur de recherche, INRAE – Bactéries sporulées, *Bacillus*, *Clostridium*, effets des procédés, microbiologie prévisionnelle, produits végétaux.

Catherine CHUBILLEAU – Chef de service, Centre hospitalier de Niort – Hygiène des aliments, épidémiologie, microbiologie des aliments, plan de maîtrise sanitaire, EDCH.

Monika COTON – Professeur des universités, Université de Brest – Microbiologie des aliments, produits fermentés, mycologie, écologie microbienne, métabolites secondaires (dont mycotoxines, amines biogènes, composés volatils), méthodes analytiques, biologie moléculaire.

Georges DAUBE – Professeur des universités, Université de Liège – Microbiologie des aliments, évaluation quantitative de risques microbiologiques, HACCP, Bonnes Pratiques d'Hygiène, filière viande et lait.

Noémie DESRIAC – Maître de conférences, Université Bretagne occidentale – Microbiologie des aliments, bactéries sporulées, mécanismes d'adaptation des microorganismes au stress, microbiologie prévisionnelle.

Florence DUBOIS-BRISSONNET – Professeur, AgroParisTech – Microbiologie des aliments, biofilms, mécanismes d'adaptation bactérienne au stress (dont conservateurs, désinfectants, réfrigération), biochimie membranaire, *Listeria monocytogenes*.

Michel FEDERIGHI – Professeur, École Nationale Vétérinaire d'Alfort – Microbiologie des aliments, hygiène et qualité des aliments, analyse des dangers, HACCP, filières et technologies alimentaires des viandes et des produits transformés.

Michel GAUTIER – Professeur, Institut Agro – Microbiologie alimentaire, biologie moléculaire, OGM microbiens, bactériophages, aliments fermentés, bactéries pathogènes.

Michèle GOURMELON – Chargée de recherche, IFREMER – Bactériologie et biologie moléculaire, écologie microbienne des milieux marins côtiers dont coquillages et zones conchylicoles et du continuum terre-mer, bactéries environnementales et d'intérêt sanitaire, *Campylobacter*.

Sandrine GUILLOU – Ingénieur de recherche, ONIRIS – Évaluation des risques sanitaires, microbiologie et écologie microbienne des aliments, modélisation, *Campylobacter*, procédés de décontamination, méthode de détection, mécanismes d'adaptation aux stress environnementaux, filière volaille.

Stéphane GUYOT – Maître de conférences, Institut Agro Dijon – Microbiologie des aliments, poudres alimentaires, pathogènes, bactéries, virus, procédés de décontamination, mécanismes d'adaptation aux stress environnementaux.

Didier HILAIRE – Ingénieur, adjoint innovation ouverte ; architecte décontamination et contre-mesures médicales NRBC, Direction générale pour l'armement – Toxines bactériennes et végétales, toxines botuliques, risques biologiques, décontamination et identification des agents biologiques.

Nathalie JOURDAN-DA SILVA – Médecin épidémiologiste, chargée de projet scientifique, Santé publique France – Épidémiologie des maladies entériques et zoonoses, investigations.

Claire LE HENAFF-LE MARREC – Professeur des universités, Bordeaux INP, INRAE – Microbiologie des aliments, écologie microbienne, bactéries lactiques, bactériophages, fermentation malo-lactique.

Sandra MARTIN-LATIL – Directrice de recherche, Anses, Laboratoire de sécurité des aliments – Virologie alimentaire, méthodes de détection, procédés de décontamination.

Jeanne-Marie MEMBRÉ – Ingénieure de recherche, INRAE – Appréciation quantitative du risque microbiologique, modélisation, microbiologie prévisionnelle, évaluation risque bénéfices et multicritères, statistiques appliquées.

Eric OSWALD – Professeur des universités Praticien hospitalier, CHU Toulouse - Université de Toulouse – Pathogénicité bactérienne, toxines, *Escherichia coli*, antibiorésistance, génomique microbienne, microbiote, *one health*, infectiologie.

Nadia OULAHAL – Professeur des universités, Université Claude-Bernard Lyon 1 – Microbiologie des aliments, hygiène des aliments, interactions biomolécules antimicrobiennes - aliments, écosystème microbien alimentaire, biofilms, biopréservation.

Pascal PIVETEAU – Directeur de recherche, INRAE – *Listeria monocytogenes* ; écologie microbienne, écologie des bactéries pathogènes dans les agroenvironnements, systèmes alimentaires, filière végétaux.

Sabine SCHORR-GALINDO – Professeur des universités, Université Montpellier – Sécurité sanitaire des aliments, microbiologie alimentaire et industrielle, mycologie, mycotoxines, écologie microbienne, technologie alimentaire, HACCP, biotechnologie, filières fruits, café et cacao.

Régine TALON – Directrice de recherche, chargée de mission, INRAE – Sciences des aliments, écologie microbienne, produits fermentés, ferments, bactéries pathogènes, filières viande et lait.

Isabelle VILLENA – Professeur des universités-Praticien Hospitalier, Chef de service Hôpital Reims, Directeur du CNR de la Toxoplasmose, CHU Reims, Université Reims Champagne-Ardenne – Evaluation des risques sanitaires, parasitologie, mycologie médicale, infectiologie clinique, épidémiologie, biologie moléculaire.

■ CES « Eaux »

Président

Gilles BORNERT – Chef de service, Groupe vétérinaire des armées de Rennes – Microbiologie, réglementation, situations dégradées, *water defense*.

Membres

Jean-Luc BOUDENNE – Professeur, Université Aix-Marseille, Laboratoire Chimie de l'environnement – Métrologie des eaux, chimie et qualité des eaux.

Nicolas CIMETIERE – Maître de conférences, HDR, École nationale supérieure de chimie de Rennes (ENSCR) – Analyse et traitement des eaux (EDCH, micropolluants organiques).

Jean-François COMMAILLE – Directeur eau et assainissement retraité – Traitement des eaux et des sous-produits.

Christophe DAGOT – Professeur, Université de Limoges, UMR Inserm 1092, RESINFIT – Antibiorésistance (intégrons, génie des procédés), qualité des effluents (antibiotiques et bactéries résistantes).

Sabine DENOOZ – Expert process et qualité de l'eau, La société Wallonne des eaux, Belgique – Produits et procédés de traitement de l'eau (EDCH), plans de gestion de la sécurité sanitaire des eaux (PGSSE), expertise technique.

Frédéric FEDER – Directeur de l'unité « Recyclage et risque », Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement (CIRAD) – Géochimie, transfert des contaminants eau/sol/plante, évaluation des risques environnementaux, analyses des eaux, sols et végétaux, reuse, REUT.

Matthieu FOURNIER – Maître de conférences, HDR en Géosciences, Université Rouen Normandie – Hydrogéologie, hydrologie, EDCH, transfert et devenir des micro-organismes dans l'environnement, modélisation, risques sanitaires.

Stéphane GARNAUD-CORBEL – Chargé de mission recherche « Eau, biodiversité et aménagement urbain », OFB – Assainissement, gestion intégrée des eaux pluviales, traitement des boues, utilisation d'eaux non conventionnelles.

Johnny GASPERI – Directeur de recherche, Université Gustave Eiffel – Micropolluants organiques, eaux urbaines, eaux de surface, traitements des eaux usées.

Jean-Yves GAUBERT – Responsable R&D, Eau du bassin rennais et Rennes Métropole assainissement – Constituants et contamination des eaux et des rejets, génie des procédés, produits et procédés de traitement, réactions secondaires et sous-produits de désinfection, réseau de distribution, exploitation de services d'eaux.

Julio GONÇALVES – Professeur, Université Aix-Marseille, Centre européen de recherche et d'enseignement en géosciences de l'environnement (CEREGE) – Hydrogéologie, ressources en eaux, transfert de contaminants dans les nappes, modélisation, recharge.

Jean-Louis GONZALEZ – Chercheur, HDR, Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer (IFREMER) – Milieu marin, contaminants chimiques, spéciation, modélisation, échantillonnages passifs.

Jean-François HUMBERT – Directeur de recherche, HDR, UMR BIOENCO, INRAe – Microbiologie de l'eau dont cyanobactéries, écologie microbienne.

Frédéric JORAND – Professeur, Université de Lorraine-Faculté de pharmacie – Eaux destinées à la consommation humaine, biofilm, biocorrosion, eau minérales naturelles, thermalisme.

Jérôme LABANOWSKI – Chargé de recherche CNRS, Université de Poitiers, UMR CNRS 7285 IC2MP, École Nationale Supérieure d'Ingénieurs de Poitiers – Qualité des effluents, biofilm en rivière, sédiments, devenir des contaminants effluents-rivière.

Jérôme LABILLE – Directeur de recherche au CNRS, Université Aix-Marseille – Devenir des contaminants dans les cycles de l'eau, exposition environnementale, vectorisation colloïdale, continuum homme terre mer, transfert en milieu, REUT, traitement de l'eau.

Sophie LARDY-FONTAN – Directrice du laboratoire d'hydrologie de Nancy – Métrologie, chimie analytique, micropolluants, ultratracés, assurance qualité/contrôle qualité (QA/QC).

Rodolphe LEMEE – Professeur à Sorbonne Université, HDR, Directeur du Laboratoire d'Océanographie de Villefranche, UMR 7093 CNRS-Sorbonne Université – Compétences en microalgues toxiques et nuisibles, *Ostreopsis*.

Françoise LUCAS – Enseignant-chercheur, Université Paris-Est Créteil, Laboratoire Eau Environnement et Systèmes Urbains (LEESU) – Virologie, écologie microbienne, indicateurs de contamination fécale, bactériophages, mycobactéries, virus entériques, eaux usées et pluviales.

Julie MENDRET – Maître de conférences, HDR, Université de Montpellier, Institut Européen des Membranes – Procédés membranaires, procédés d'oxydation avancée, couplage de procédés, élimination de micropolluants dans l'eau, réutilisation des eaux usées traitées.

Laurent MOULIN – Responsable du département recherche et développement, Eau de Paris – Microbiologie, virologie, traitements de désinfection, amibes.

Damien MOULY – Épidémiologiste, responsable d'unité, en charge de surveillance des épidémies d'origine hydrique, Santé Publique France – Risques infectieux, risques chimiques, PGSSE, épidémiologie, évaluation des risques sanitaires, surveillance, alerte.

Fabienne PETIT – Professeur émérite, Université de Rouen, UMR CNRS M2C – Écologie microbienne.

Catherine QUIBLIER – Professeur Université Paris Diderot, HDR - Museum National d'Histoire Naturelle – Écologie et toxicité des cyanobactéries planctoniques et benthiques, surveillance.

Pauline ROUSSEAU-GUEUTIN – Enseignante chercheuse en hydrogéologie, École des hautes études en santé publique (EHESP) – Hydrogéologie, hydrologie, transferts des contaminants, périmètres de protection de captage, PGSSE.

Marie-Pierre SAUVANT-ROCHAT – Professeur, Université Clermont-Auvergne, Faculté de Pharmacie – Santé publique et environnement, épidémiologie, évaluation de risques sanitaires.

Anne TOGOLA – Chef de projet de recherche, Bureau de recherche géologiques et minières (BRGM) – Micropolluants organiques, chimie analytique, eaux souterraines.

Mylène TROTTIER – Médecin-conseil, Institut national de santé publique du Québec – Prévention des risques professionnels liés aux nuisances en milieu de travail, épidémiologie, biostatistiques.

Sébastien WURTZER – Responsable du service de biologie moléculaire et pathogènes émergents, Eau de Paris – Virologie clinique et environnementale, biologie moléculaire, traitement de l'eau, évaluation du risque sanitaire, gestion du risque microbiologique.

■ CES « Substances et produits biocides » (CES BIOCIDES)

Président

Georges DE SOUSA – Ingénieur de Recherche, INRAe – Toxicologie, méthodologie *in vitro*, perturbateurs endocriniens, cinétique, modélisation.

Membres

Olivier ADAM, vice-président – Dirigeant chez Hydrobio Conseil – Ecotoxicologie, produits biocides TP8.

Alain AYMARD – Ingénieur et enquêteur retraité de la DGCCRF – Réglementation, classification et étiquetage.

Émilie BARRANGER – Manager des risques, Ministère des Armées – Risques chimiques et biologiques, hygiène Industrielle, réglementation.

Jean-Marc BERJEAUD – Professeur, Université Poitiers – Microbiologie, antimicrobiens, perturbateurs endocriniens.

Jean-Christophe CAHUZAC – Responsable de la section de produits chimiques, biocides et substances dangereuses, Ingénieur des Laboratoires du Ministère des Finances – Physico chimie, méthodes d'analyse, formulation, réglementation.

Sylvie CHEVALIER – Professeur, Université Rouen – Microbiologie, biofilm, antibio-résistance.

Gwenaél CORBEL – Chargé de recherche au CNRS, Le Mans Université – Chimie, physico-chimie des matériaux.

Pierre GREVE – Professeur à l'Université de Poitiers – Perturbateurs endocriniens, différenciation sexuelle, reprotoxicité (faune), microbiologie, écotoxicologie des sols, tests comportementaux.

Philippe HARTEMANN – Professeur de Santé Publique retraité – Microbiologie, désinfectants, hygiène.

Claire HELLIO – Professeur, Université de Bretagne Occidentale – Écologie, biotechnologie marine, biochimie marine.

Dominique PESSEL – Chef d'unité, Fougères, Anses – Physico-chimie analytique, résidus médicaments vétérinaires, résidus de biocides désinfectants.

Christophe SOUMET – Ingénieur de recherche, Chef d'unité AB2R, Fougères, Anses – Microbiologie, désinfectants, résistance.

PARTICIPATION ANSES

Coordination scientifique

Saisine transversale ayant impliqué les unités ci-dessous :

- Direction de l'évaluation des risques (DER) – Unité d'évaluation des risques liés au bien-être, à la santé et à l'alimentation des animaux, et aux vecteurs (UBSA_{2V})
 - Caroline BOUDERGUE – Adjointe à la cheffe d'unité
 - Ali JAFFAL – Coordinateur scientifique
- DER – Unité d'évaluation des risques liés aux aliments (UERALIM)
 - Pauline KOOH – Cheffe de projets scientifiques
- DER – Unité d'évaluation des risques liés à l'eau (UERE)
 - Carole CATASTINI – Coordinatrice d'expertise scientifique
- Direction de l'évaluation des produits réglementés (DEPR) – Unité d'évaluation de l'Efficacité des Biocides (U2EB)
 - Nabila HADDACHE – Cheffe de projets scientifiques

Secrétariat administratif

Régis MOLINET – Anses

AUDITION DE PERSONNALITÉS EXTÉRIEURES

Les personnes mentionnées dans le Tableau 1 ont été auditionnées par le groupe de travail. Les experts du groupe de travail remercient l'ensemble des personnes consultées pour la qualité des échanges. Les informations transmises dans ce cadre ont été prises en compte lors de l'élaboration du rapport.

Avertissement : la mention des personnes dans le tableau ci-dessous ne signifie pas qu'elles endossent les conclusions du présent rapport.

Tableau 1. Liste des personnes auditionnées

Nom	Fonction	Organisme
Sébastien HAREL	Directeur des services techniques	Ville de Châteaugiron
Denis GATEL	Adjoint - Transition écologique, développement durable et agriculture	
Jean-Marc GILLIER	Directeur	Réserve naturelle nationale du lac de Grand-Lieu
Christophe SORIN	Conservateur de la réserve naturelle régionale du lac de Grand-Lieu	Fédération Départementale des Chasseurs de la Loire-Atlantique

SOMMAIRE

Présentation des intervenants	3
Sigles et abréviations.....	14
Liste des tableaux	16
Liste des figures.....	17
1. Contexte, objet et modalités de réalisation de l'expertise	18
1.1. Contexte	18
1.2. Objet de la saisine	19
1.3. Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation.....	20
1.4. Prévention des risques de conflits d'intérêts	20
2. Présentation générale du cadre de l'expertise : plans d'eau douce continentaux affectés par des épisodes de botulisme, et activités humaines	21
2.1. Caractéristiques des plans d'eau affectés par des épisodes de botulisme	22
2.2. Activités humaines.....	24
2.2.1. Activités de pêche et consommation des poissons	24
2.2.2. Activités de chasse et consommation du gibier chassé.....	27
2.2.3. Activités de tourisme, sport d'eau douce et loisirs (autres que chasse et pêche)	29
3. Éléments d'information sur le danger	31
3.1. Caractéristiques de <i>Clostridium botulinum</i> et des toxines botuliques et données de résistance (rappels).....	31
3.1.1. Caractéristiques de <i>Clostridium botulinum</i> et des toxines botuliques	31
3.1.2. Données de résistance et efficacité des procédés de traitement dans les matrices alimentaires (appliquées au gibier à plumes et aux poissons)	37
3.1.3. Efficacité des procédés de décontamination chimique	41
3.2. Botulisme humain (rappels)	44
3.2.1. Différentes formes de botulisme humain	44
3.2.2. Signes cliniques et traitement	45
3.2.3. Données de surveillance en France.....	46
3.2.4. Caractère zoonotique des types C, D et mosaïques C/D et D/C	47
3.3. Botulisme de la faune sauvage	48
3.3.1. Principales caractéristiques du botulisme dans l'avifaune sauvage	49
3.3.2. Principales caractéristiques du botulisme chez les espèces piscicoles	57
3.3.3. Botulisme chez les mammifères	62
3.3.4. Données épidémiologiques sur <i>C. botulinum</i> et le botulisme dans la faune sauvage et les milieux aquatiques en France	65
4. Évaluation des risques pour la santé humaine	82
4.1. Description de la méthode d'évaluation	83

4.2.	Caractérisation du danger.....	84
4.3.	Schéma événementiel	86
4.4.	Identification des sources de contamination et évaluation des probabilités de présence du danger	88
4.4.1.	Éléments pris en compte et limites de l'évaluation des probabilités de présence du danger	88
4.4.2.	Probabilités de présence du danger dans les différentes sources de contamination	88
4.5.	Évaluation des probabilités de survenue de botulisme humain	98
4.5.1.	Voies de contamination chez les humains exposés	98
4.5.2.	Probabilité de survenue de botulisme humain associé aux activités sur le site du plan d'eau contaminé	100
4.5.3.	Probabilité de survenue de botulisme humain associé à la préparation et à la consommation de poisson d'eau douce.....	106
4.5.4.	Probabilité de survenue de botulisme humain associé à la préparation et la consommation de gibier d'eau.....	111
4.6.	Bilan de l'évaluation des risques.....	117
5.	Prévention et moyens de lutte contre le botulisme dans la faune sauvage ...	122
5.1.	Revue des principales mesures de gestion proposées	122
5.1.1.	Mesures préventives.....	123
5.1.2.	Mesures curatives.....	125
5.2.	Actions engagées dans divers pays pour limiter un épisode avéré de botulisme dans la faune sauvage	128
5.2.1.	Mesures préventives.....	128
5.2.2.	Mesures curatives.....	129
5.3.	Actions engagées pour limiter un épisode avéré de botulisme dans la faune sauvage en France	129
6.	Incertitudes	133
7.	Conclusions et recommandations du groupe de travail.....	136
7.1.	Évaluation de risque de botulisme	137
7.2.	Recommandations pour limiter un épisode de botulisme et le risque pour la santé humaine	138
7.3.	Autres recommandations du GT	140
8.	Bibliographie.....	141
	Annexe 1 : Lettre de saisine	159

Sigles et abréviations

ACMSF	: <i>Advisory Committee on the Microbiological Safety of Food</i>
Afssa	: Agence française de sécurité sanitaire des aliments
AMI	: Appel à manifestation d'intérêt
AMM	: Autorisation de mise à disposition sur le marché
Anses	: Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail
ARS	: Agence régionale de santé
BoNT	: Neurotoxine botulique - <i>Botulinum Neurotoxin</i>
CE	: Commission européenne
CES	: Comité d'experts spécialisés
CNR	: Centre national de référence
CPIE	: Centre permanent d'initiatives pour l'environnement
CVT	: <i>Catfish visceral toxicosis</i>
DAOA	: Denrée alimentaire d'origine animale
DDPP	: Direction départementale de la protection des populations
DGAL	: Direction générale de l'alimentation
DL	: Dose létale
ELISA	: <i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
ENS	: Espace naturel sensible
EPI	: Équipement de protection individuelle
FDC	: Fédération départementale des chasseurs
GBPH	: Guide de bonnes pratiques d'hygiène
GT	: Groupe de travail
HACCP	: <i>Hazard analysis critical control point</i>
HC	: <i>Heavy chain</i> (chaîne lourde)
ICPE	: Installations classées pour la protection de l'environnement
IDT	: Interlocuteurs techniques départementaux
LC	: <i>Light chain</i> (chaîne légère)
LMD	: <i>Lower motor neuron</i>
LNR	: Laboratoire national de référence
MDO	: Maladie à déclaration obligatoire
MES	: Matières en suspension
MLD	: <i>Mouse lethal dose</i> (dose mortelle pour la souris)

MLVA	: <i>Multi Loci VNTR Analysis</i>
MUS	: Mission des urgences sanitaires
NPP	: Nombre plus probable
OFB	: Office français de la biodiversité
ONCFS	: Office national de la chasse et de la faune sauvage
PBS	: <i>Phosphate-buffered saline</i>
PCB	: Polychlorobiphényles
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
SAGE	: Schéma d'aménagement et de gestion des eaux
SD	: Service départemental (de l'OFB)
SDAGE	: Schéma directeur d'aménagement et de gestion des eaux
SNARE	: <i>Soluble N-ethylmaleimide-sensitive fusion protein attachment receptor</i>
TD	: Tube digestif
TP	: Type de produit
TPGY	: <i>Tryptone, Peptone, Glucose, Yeast</i>
VP	: Valeur pasteurisatrice

Liste des tableaux

Tableau 1. Liste des personnes auditionnées.....	11
Tableau 2. Classification et caractéristiques physiologiques des <i>C. botulinum</i> et des espèces de <i>Clostridium</i> neurotoxigènes en conditions de laboratoire.	32
Tableau 3. Impact du traitement thermique sur <i>C. botulinum</i> (spores et toxines) ¹	40
Tableau 4. Liste des cas de botulisme aviaire en faune sauvage de type E recensés depuis 2009 en France à travers des analyses en laboratoire (tests PCR et/ou test de séroneutralisation sur souris).....	68
Tableau 5. Synthèse des résultats de détection par PCR après enrichissement des spores de <i>C. botulinum</i> de sous-type C/D et de type E au niveau de l'environnement de trois étangs avec historique de botulisme aviaire C/D.	71
Tableau 6. Synthèse des résultats de détection par PCR après enrichissement des spores de <i>C. botulinum</i> de sous-type C/D et de type E au niveau de l'environnement de deux étangs sans historique de botulisme aviaire.....	72
Tableau 7. Critères d'attribution des qualificatifs utilisés pour caractériser les incertitudes...84	
Tableau 8. Évaluation qualitative des probabilités de présence de <i>C. botulinum</i> C/D et E (bactérie* et toxine) dans les matrices considérées dans les sources potentielles de contamination pour les humains.	89
Tableau 9. Impact des scénarios de cuisson sur les différentes formes de <i>C. botulinum</i> types C/D, E*.	109
Tableau 10. Situations à risque pour les humains pratiquant des activités sur plan d'eau douce où un épisode de botulisme de sous-type C/D ou de type E est suspecté ou avéré et propositions de mesures de réduction du risque.....	119
Tableau 11. Caractéristiques de six plans d'eau douce régulièrement touchés par des épisodes de botulisme aviaire et mesures de gestion mises en œuvre pour gérer ces épisodes.	131
Tableau 12. Principales sources d'incertitudes et prise en compte dans l'expertise.	134

Liste des figures

Figure 1. Représentation schématique des domaines fonctionnels des BoNTs C, D, C/D et D/C et de la BoNT récemment identifiée dans des cas de botulisme alimentaire au Japon. D'après Maeda et al. (2023).	35
Figure 2. Répartition des foyers de botulisme alimentaire avec identification de la source alimentaire (N = 50) en fonction du type de préparation, de la nature de l'aliment, de l'origine des aliments et du type de toxine botulique (données du CNR Botulisme ; 2008 - 2022).	47
Figure 3. Distribution des espèces d'oiseaux sauvages pour lesquelles un résultat positif a été détecté en fonction des types toxiniques (données SAGIR et LNR botulisme aviaire) sur la période 2014 - 2023 (nombre total d'événements : 182).....	67
Figure 4. Distribution spatiale des événements pour lesquels un résultat positif en <i>C. botulinum</i> et/ou toxines a été détecté entre 2014 et 2023 (données réseau SAGIR).	68
Figure 5. Exemple de l'effet du vent sur la mobilisation des sédiments et matières organiques dans un étang, pouvant augmenter la biodisponibilité de <i>C. botulinum</i> issu des sédiments (Source : https://rappel.qc.ca/fiches-informatives/sediments/).	75
Figure 6. Schéma synthétique et hypothétique des conditions physico-chimiques favorisant l'apparition d'épisode de botulisme (Source : Pérez-Fuentetaja et al. (2011)).	76
Figure 7. Comparaison de l'index de vulnérabilité (moyenne +/- erreur standard) au botulisme d'espèces d'oiseaux d'eau au cours d'épisodes sur le lac Nebraska en Espagne en 2011 et 2012 (Source : Anza et al. (2016)).....	80
Figure 8. Schéma récapitulatif émission / exposition / amplification.....	80
Figure 9. Schéma événementiel des sources de contamination, des voies de circulation de <i>C. botulinum</i> et des situations pouvant conduire, sur un plan d'eau reconnu contaminé, au développement de cas de botulisme humain.....	87

1. Contexte, objet et modalités de réalisation de l'expertise

1.1. Contexte

Le botulisme est une maladie neurologique humaine et animale, le plus souvent d'origine alimentaire, provoquée par l'action de neurotoxines bactériennes (toxines botuliques) produites par différentes espèces bactériennes du genre *Clostridium* (*C. botulinum*, *C. argentinense*, *C. butyricum* et *C. baratii*) (Popoff et Bouvet 2013). Cette maladie se manifeste par une paralysie flasque pouvant aller jusqu'à la paralysie respiratoire et l'arrêt cardiaque. Neuf types toxiques¹, répartis en une quarantaine de sous-types, sont connus.

En France, le botulisme animal affecte essentiellement les oiseaux (sauvages et domestiques) et les bovins. Chez les volailles, il est recensé annuellement 20 à 30 foyers, majoritairement dus au type mosaïque C/D (élevages de poulets de chair et de dindes), suivi du type D et du type mosaïque D/C (uniquement dans les élevages de dindes). Chez les bovins, l'incidence est en moyenne d'une dizaine de foyers par an et les épisodes de botulisme sont dus aux types mosaïque D/C (majoritaire), C, mosaïque C/D et rarement D (Le Bouquin et al. 2022).

Les pertes en élevage liées à ces foyers et les interrogations sur leurs conséquences dans le domaine de la santé publique ont amené les pouvoirs publics à réglementer le botulisme animal en l'intégrant dans la liste des dangers sanitaires de première catégorie pour les espèces animales (arrêté du 29 juillet 2013)². Aujourd'hui, cette maladie figure dans la liste provisoire des maladies animales réglementées d'intérêt national en application de l'article L. 221-1 du code rural et de la pêche maritime (arrêté du 3 mai 2022)³. Pour autant, aucune mesure de police sanitaire de portée générale n'a été, à ce jour, édictée pour gérer les foyers de botulisme animal. Chacun de ces foyers est géré au cas par cas par la direction départementale en charge de la protection des populations (DDPP) concernée, et par la mission des urgences sanitaires (MUS) de la Direction générale de l'alimentation (DGAL).

Pour ce faire, ces services se sont appuyés jusqu'à présent sur un rapport sur le botulisme animal publié par l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa 2002) et un avis rendu en janvier 2009 sur un projet (par la suite abandonné) d'arrêté fixant des mesures techniques et administratives relatives à la lutte contre le botulisme aviaire (Afssa 2009). Afin

¹ Les neurotoxines botuliques constituent une famille de toxines qui ont une structure chimique et des propriétés toxicologiques similaires mais qui se distinguent entre elles par leurs caractéristiques immunogéniques. Cette variabilité du pouvoir immunogène a été utilisée pour classer les neurotoxines botuliques en neuf types ou sérotypes (A à H et X). Le terme toxinotype peut être utilisé et a la même signification.

² Arrêté du 29 juillet 2013 relatif à la définition des dangers sanitaires de première et deuxième catégorie pour les espèces animales. Cet arrêté, aujourd'hui abrogé, était devenu obsolète depuis l'entrée en application, au 21/04/2021, du règlement (UE) 2016/429 du Parlement européen et du Conseil (*animal health law* ou loi santé animale), qui définit une liste de maladies animales transmissibles vis-à-vis desquelles s'appliquent les mesures de surveillance, de prévention et/ou de lutte prévues par ce règlement. Or, le botulisme animal n'a pas été retenu dans cette liste.

³ Arrêté du 3 mai 2022 listant les maladies animales réglementées d'intérêt national en application de l'article L. 221-1 du code rural et de la pêche maritime. Le botulisme animal figure dans l'annexe II de cet arrêté. Cette annexe destinée à être abrogée, réunit des maladies dont les mesures de surveillance, de prévention et/ou de lutte ne sont que transitoirement placées sous l'autorité de l'État.

de pouvoir disposer de données actualisées et déterminer des mesures de gestion adaptées aux particularités du botulisme des types C, D, mosaïques C/D et D/C, et E, la DGAL a sollicité l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) à la fin du mois de juin 2019 pour quatre saisines (saisines 2019-SA-0112 à 2019-SA-0115)⁴.

L'expertise des quatre saisines a été organisée en deux étapes :

1. une mise à jour des connaissances sur *Clostridium botulinum* (types C, D, mosaïques C/D et D/C et E) effectuée par le groupe de travail (GT) « Groupe socle botulisme », portant sur les caractéristiques microbiologiques, les maladies humaine et animales (bovins, oiseaux et poissons), la présence des différentes formes et types dans l'environnement, le danger dans les denrées alimentaires d'origine animale ainsi que l'efficacité des méthodes et procédés d'inactivation (Anses 2021a) ;
2. le traitement des questions d'évaluation des risques par des GT spécifiques « Botulisme bovin-aviaire » (Anses 2021c; 2022a) et « Botulisme décontamination » (Anses 2022b).

La saisine 2019-SA-0115 est le quatrième et dernier volet de ces évaluations de risque réalisées par des GT *ad hoc*.

1.2. Objet de la saisine

D'après le texte de la saisine 2019-SA-0115 (Annexe 1) : « (...) Depuis août 2018, les gènes codant pour les toxines C/D et E (le type E est impliqué dans les cas [de botulisme] humain) ont été détectés dans 3 foyers différents en faune sauvage. C'est la première fois que ce cas de figure se présente et les mesures de gestion n'ont pas été prévues.

Plusieurs questions se posent :

- [question 1.] Quel est le risque pour la santé publique lors de la manipulation de ces animaux [ou] lors de leur consommation ? Il est à noter que la recherche de botulisme dans l'avifaune n'est pas systématique (gibier sauvage) mais [n'est] mise en œuvre que lors de mortalités groupées ;
- [question 2.] La présence de cadavres potentiellement contaminés par des spores de *C. botulinum* du type C, D, C/D et E au bord des plans d'eaux représente-t-elle un risque pour la santé publique liée à la consommation de poissons ou lors d'activités de loisirs ?
- [question 3.] A ce jour, les recommandations données pour limiter l'épisode animal sont le ramassage des cadavres ainsi que le chaulage de la zone où les animaux ont été trouvés. Quelles autres préconisations peuvent être apportées, notamment auprès des chasseurs pour limiter [le] risque ? »

Les questions de la saisine ont été précisées après échange avec le demandeur le 27 novembre 2023 et l'expertise collective a porté sur le périmètre suivant, en lien avec les épisodes de botulisme des types C, D, mosaïques C/D et D/C, et E :

⁴ 2019-SA-0112 : évaluation des mesures de maîtrise en filière bovine lors de la détection de cas de botulisme ; 2019-SA-0113 : décontamination et gestion des sous-produits d'élevage lors des cas de botulisme bovin et aviaire ; 2019-SA-0114 : évaluation des mesures de maîtrise en filière avicole lors de la détection de cas de botulisme ; 2019-SA-0115 : mesures de gestion de cas de botulisme dans la faune sauvage.

- l'évaluation du risque pour la santé publique humaine lors de la manipulation ou de la consommation de gibiers d'eau en cas d'épisode de botulisme ;
- l'évaluation du risque pour la santé publique humaine en lien avec la consommation de poissons ou les activités de loisirs en cas d'épisodes de botulisme, du fait de la présence de cadavres d'animaux dans la zone concernée ;
- les recommandations pour réduire l'intensité et la durée d'un épisode animal et limiter le risque pour la santé publique humaine en particulier vis-à-vis des chasseurs et les usagers des plans d'eau.

1.3. Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation

L'Anses a confié l'instruction de cette saisine au GT « Botulisme faune sauvage », rattaché aux comités d'experts spécialisés (CES) SABA, BIORISK, EAUX et BIOCIDES.

Les travaux du GT s'appuient sur les données présentées dans le rapport d'expertise collective « *Clostridium botulinum* : mise à jour des connaissances sur les différentes formes des types C, D, mosaïques C/D et D/C et E » (Anses 2021a). Ces données ont été actualisées en se fondant sur : (i) une recherche bibliographique récente, (ii) des données obtenues dans le cadre du projet AMI « botulisme faune sauvage »⁵ et (iii) les résultats d'une enquête menée par le GT auprès de quelques gestionnaires de plans d'eau situés en France et confrontés à des épisodes récurrents de botulisme.

Les travaux d'expertise du GT ont été présentés régulièrement aux CES (tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques) : SABA (les 10 mai 2022, 16 janvier 2024, 10 septembre 2024 et 25 mars 2025) ; BIORISK (les 18 mai 2022, 11 décembre 2023, 25 février 2025 et 26 mars 2025) ; EAUX (les 10 mai 2022, 6 février 2024 et 4 mars 2025) et BIOCIDES (29 février 2024 et 6 mars 2025). Ils ont été adoptés par le CES SABA réuni le 29 avril 2025. Le rapport produit par le GT tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres des CES. Ces travaux sont ainsi issus de collectifs d'experts aux compétences complémentaires.

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – prescriptions générales de compétence pour une expertise (Janvier 2024) ».

1.4. Prévention des risques de conflits d'intérêts

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise. Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet <https://dpi.sante.gouv.fr/>.

⁵ Projet issu de l'appel à manifestation d'intérêt (AMI) - transversalités (financé par l'Anses en 2022 - 2023) « Approche *One Health* pour l'évaluation du risque lié au botulisme dans l'avifaune sauvage », coordonné par le laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort de l'Anses (Unité Hygiène et Qualité des Produits Avicoles et Porcins). Ce projet avait pour objectifs d'établir un état des lieux actualisé du botulisme en faune sauvage à travers les retours d'expérience des équipes travaillant sur le sujet au niveau mondial et d'évaluer le rôle de la contamination environnementale dans l'émergence et/ou le maintien d'épisodes de botulisme en faune sauvage.

2. Présentation générale du cadre de l'expertise : plans d'eau douce continentaux⁶ affectés par des épisodes de botulisme, et activités humaines

Les questions posées dans la présente saisine sont celles des risques pour la santé publique inhérents au développement de foyers de botulisme affectant l'avifaune sauvage en France, lesquels sont majoritairement identifiés dans des biotopes caractérisés par la présence permanente ou temporaire d'eau douce tels que décrits dans les zones humides⁷ et les plans d'eau qui y sont situés.

Ces biotopes constituent des habitats pour une flore et une faune nombreuses et diversifiées adaptées à ces milieux aquatiques. Ils abritent notamment une grande variété d'oiseaux qui y vivent, s'y nourrissent et s'y reproduisent ou, dans le cas de certains migrateurs, y transitent à certaines périodes de l'année. Ces écosystèmes sont néanmoins extrêmement fragiles et particulièrement sensibles aux aléas climatiques (augmentation des températures notamment, périodes de sécheresse) et aux pollutions (souvent d'origine anthropique). La dégradation du milieu qui en découle (marquée par l'eutrophisation, l'accumulation de matières organiques et l'installation d'une anoxie) impacte la flore et la faune. Elle a aussi une incidence sur les productions piscicoles en eau douce, ainsi que sur les activités de pêche et de chasse aux gibiers d'eau. Elle impacte également les activités de loisir et touristiques offertes par l'ouverture de ces sites en réponse aux demandes croissantes d'un public désireux d'y effectuer des promenades, des activités de découverte de la nature, de s'y baigner et d'y pratiquer des activités nautiques.

Ces biotopes peuvent aussi héberger des agents pathogènes, comme c'est le cas pour *Clostridium botulinum*, bactérie tellurique anaérobie dont certaines espèces (des groupes II correspondants au toxinotype E, et III correspondant aux toxinotypes C, D, C/D et D/C) sont adaptées aux milieux humides ou aquatiques et dans lesquels elles peuvent se maintenir silencieusement sous leur forme sporulée. Les dégradations de ces milieux peuvent offrir à ces bactéries, si elles sont présentes, les conditions leur permettant de s'y développer (cf. § 3.3.4), d'affecter des espèces sensibles (poissons, oiseaux, mammifères) et de causer des épizooties meurtrières, comme observé chez les oiseaux. Selon leur degré d'exposition (aux milieux et/ou aux animaux) et leur sensibilité, les humains fréquentant ces sites et/ou consommant des poissons et gibiers en provenant présentent un risque accru de contamination qu'il convient donc d'évaluer.

Dans le contexte de cette saisine et en tenant compte de la localisation des épisodes de botulisme qui ont été décrits ces dernières années sur le territoire français et sur les résultats d'investigations récentes menées sur certains de ces sites (cf. § 3.3.4), l'analyse et l'expertise ont été focalisées sur les plans d'eau douce continentaux, notamment représentés par des étangs et des « lacs » de faible profondeur situés en majorité dans des zones humides. Dans

⁶ Le terme continental est utilisé au sens de « relatif aux terres émergées ».

⁷ Les zones humides (*wetlands* pour les anglo-saxons) sont définies selon l'article L211-1 du code de l'environnement (loi sur l'eau de 1992), comme « les terrains, exploités ou non, habituellement inondés ou gorgés d'eau douce, salée ou saumâtre de façon permanente ou temporaire, ou dont la végétation, quand elle existe, y est dominée par des plantes hygrophiles pendant au moins une partie de l'année ».

cette partie du rapport seront précisées les principales caractéristiques de ces plans d'eau et les différentes activités humaines qui y sont rattachées.

2.1. Caractéristiques des plans d'eau affectés par des épisodes de botulisme

Les plans d'eau peuvent être classés en différentes catégories selon leur localisation (continentale de plaine ou d'altitude, littorale, marine), le type d'eau qui les compose (eau douce, saumâtre ou salée, stagnante ou légèrement courante), leur nature, taille ou profondeur (mare, étang, lac, lagune) ou selon leur origine : naturelle ou artificielle (lacs-réservoirs, étangs de pisciculture, etc.).

Toutes ces catégories peuvent potentiellement être le site d'épisodes de botulisme affectant la faune sauvage qui y vit ou y transite.

L'analyse et l'expertise ont été focalisées sur les plans d'eau de plaine situés en zones humides dans des territoires dits « régions d'étangs » (comme c'est le cas des étangs de la Dombes, Brenne, Sologne, Forez, Woëvre, Champagne humide, etc.). Ils comprennent plusieurs plans d'eau éventuellement connectés entre eux, des marais associés, des territoires entre les plans d'eau, et comportent un réseau hydrologique plus ou moins important (Sandre 2014). Ces étangs sont en général des étendues d'eau douce stagnante ou à circulation lente (milieux lenticques), vidangeables, dont la superficie est variable (1 000 m² à plusieurs centaines d'hectares). Ils se caractérisent notamment par leur faible profondeur (rarement supérieure à 3 m, à la différence des lacs qui sont d'une profondeur généralement supérieure à 6 m), ce qui favorise le développement d'une végétation subaquatique. Certains plans d'eau, comme le lac de Grand Lieu, dont la profondeur maximale est de l'ordre de 3 m seulement et dont la taille peut atteindre 6 300 hectares en hiver, sont qualifiés de « lac » en raison de leur grande taille.

Comme le soulignent Le Bihan et Font (2008), les pentes douces de ces plans d'eau, qui favorisent l'accès et le développement d'une végétation diversifiée (dont des roselières par exemple), et les îlots, hauts fonds et sinuosités qui en offrent des zones de tranquillité et augmentent la proportion de zones de transition, se révèlent souvent très favorables à la biodiversité.

De nombreux acteurs sont susceptibles de prendre part à la gestion et à l'entretien effectif de ces plans d'eau (propriétaires, collectivités, pêcheurs/chasseurs, pisciculteurs, etc.). Les modalités de gestion (ex : vidange/remplissage) sont encadrées par différentes réglementations (notamment Loi sur l'Eau, réglementation Pêche, réglementation dédiée aux installations classées pour la protection de l'environnement (ICPE)). Certains de ces étangs possèdent des plans de gestion qui sont intégrés aux Schémas Directeurs d'Aménagement et de Gestion des Eaux (SDAGE) voire à des Schémas d'Aménagement et de Gestion des Eaux (SAGE), pour assurer une cohérence et une homogénéité de gestion à l'échelle des bassins versants. D'autres étangs sont gérés par de multiples acteurs sans que leurs actions ne soient vraiment coordonnées, ce qui peut aller à l'encontre d'une gestion durable et d'un maintien/restauration de la qualité des écosystèmes.

Réservoirs de biodiversité, ces milieux génèrent une mosaïque d'habitats, abritant chacun une flore et une faune spécifiques, et offrent une grande variété de ressources alimentaires, de

sites de repos et de reproduction pour de nombreuses espèces animales, y compris des espèces protégées.

Certains plans d'eau peuvent être riches en matière organique issue de leur bassin versant ou de la production primaire autochtone. Ces matières accumulées dans la masse d'eau et sur le fond constituent un substrat et une source de nourriture pour de nombreux invertébrés et microorganismes (protozoaires, phytoplancton, bactéries, champignons). L'activité de ces microorganismes, notamment leur respiration, peut alors conduire à une diminution importante des concentrations en oxygène dans l'eau pouvant aller jusqu'à une anoxie complète.

Les espèces animales hébergées dans ces milieux sont notamment des macro-invertébrés (insectes, nématodes, mollusques, crustacés dont des écrevisses, etc.), des amphibiens (grenouilles, crapauds, tritons et salamandres) qui se reproduisent dans l'eau et y demeurent le plus souvent au stade larvaire, des reptiles, des poissons, des oiseaux et des mammifères inféodés aux milieux aquatiques (Efese 2018).

Les poissons vivant dans les plans d'eau douce continentaux sont principalement des espèces adaptées aux eaux calmes et peu oxygénées (cas de nombreux étangs dont les eaux sont riches en matières organiques et en nutriments), notamment des cyprinidés comme la carpe commune *Cyprinus carpio*, le gardon *Rutilus rutilus*, la tanche *Tinca tinca*, etc., des espèces de poissons dits carnassiers comme le brochet commun *Esox lucius*, la perche commune *Perca fluviatilis*, le sandre *Sander lucioperca*, l'achigan à grande bouche⁸ *Micropterus salmoides* ou le silure glane *Silurus glanis*. Les cyprinidés ont un régime alimentaire varié, composé selon l'espèce et leur stade de développement, de plantes aquatiques et débris végétaux, de vers, moules d'eau douces, larves d'insectes, crustacés. Certains cyprinidés (carpe commune, tanche, brème commune *Abramis brama*) dits benthiques (vivant près du fond) ont un comportement fouisseur et donc un contact majoré avec les sédiments. D'autres sont plus pélagiques, comme le rotengle *Scardinius erythrophthalmus*, et s'alimentent préférentiellement dans la couche d'eau intermédiaire ou en surface. Les espèces dites carnassières ont des régimes alimentaires variant selon leurs stades de développement ; au stade adulte, et selon les disponibilités offertes par le milieu, ces carnassiers sont ichtyophages⁹ mais diversifient largement leur régime alimentaire en consommant notamment des écrevisses et des amphibiens.

Les oiseaux les plus emblématiques des plans d'eau douce continentaux, qualifiés d'« oiseaux d'eau » regroupent notamment des anatidés (oies, canards, cygnes), des ardéidés (hérons, aigrettes, spatule blanche *Platalea leucorodia*, etc.), des limicoles (barges, bécasseaux, bécassines, chevaliers, etc.) et des rallidés (gallinule poule d'eau *Gallinula chloropus*, râle d'eau *Rallus aquaticus*, foulque macroule *Fulica atra*, etc.), ainsi que des laridés (ex. goéland argenté *Larus argentatus* et mouette rieuse *Chroicocephalus ridibundus*), des phalacrocoracidés (grand cormoran *Phalacrocorax carbo*) et des podicipédidés (grèbes). Ils accueillent aussi des passereaux (ex. rousserolle effarvate *Acrocephalus scirpaceus*, phragmite des joncs *Acrocephalus schoenobaenus*, bruant des roseaux *Emberiza schoeniclus*) et des rapaces (busard des roseaux *Circus aeruginosus*). Certaines espèces vivent toute l'année sur un même plan d'eau, mais ces plans d'eau peuvent aussi servir de zones de repos et de zones d'hibernation pour les espèces migratrices, comme c'est le cas pour de nombreux anatidés (canard colvert *Anas platyrhynchos*, canard souchet *Spatula clypeata*, sarcelle d'hiver *Anas crecca*, etc.). Ces différentes espèces occupent des niches

⁸ Aussi appelé le Black-bass à grande bouche.

⁹ Un animal est ichtyophage lorsqu'il se nourrit de poissons.

écologiques différentes dans ces divers plans d'eau, et se distinguent donc par leurs modes et traits de vie, leurs préférences d'habitat et leur régime alimentaire (végétaux immergés, mollusques, crustacés, vers, insectes, petits poissons, etc.).

Certains mammifères inféodés à ces milieux sont qualifiés de mammifères semi-aquatiques. Les mammifères semi-aquatiques, autochtones ou exotiques, présents sur le territoire français hexagonal sont principalement des rongeurs (ragondin *Myocastor coypu*, castor d'Europe *Castor fiber*, campagnol amphibie *Arvicola sapidus*, rat musqué *Ondatra zibethicus* et rat brun *Rattus norvegicus*), des insectivores (musaraigne aquatique, du genre *Neomys*) et des carnivores (loutre d'Europe *Lutra lutra*, putois *Mustela putorius*, vison d'Europe *Mustela lutreola* et vison d'Amérique *Neovison vison*). D'autres mammifères peuvent fréquenter plus ou moins régulièrement ces zones humides mais sans y être inféodés, à l'exemple du renard roux *Vulpes vulpes*, du sanglier *Sus scrofa*, du chevreuil *Capreolus capreolus* ou encore du raton laveur *Procyon lotor* (espèce exotique). Il en est de même pour d'autres animaux sauvages et, lorsque des éleveurs exploitent des parcelles en bordure des plans d'eau, des herbivores domestiques (bovins, moutons ou chevaux).

2.2. Activités humaines

Les plans d'eau douce continentaux accueillent de multiples activités pouvant exposer les personnes à l'environnement contaminé. L'exposition des personnes peut être réalisée par contact avec des matrices environnementales contaminées (sédiments, eaux) ou par la consommation d'espèces animales qui y vivent (poissons, crustacés, amphibiens, oiseaux). Les activités traditionnelles (Le Bihan et Font 2008) se répartissent en activités d'élevages piscicoles (exercées principalement dans le cadre d'une gestion piscicole extensive des étangs), agricoles (notamment le pâturage dans les milieux attenants aux étangs) et récréatives (pêche de loisir, chasse aux gibiers d'eau). A ces activités, s'ajoutent des activités touristiques, culturelles et sportives. Dans les parties suivantes, seront présentées de manière succincte des activités désignées dans les questions de la saisine, c.-à-d. la pêche, la chasse, le tourisme et les activités nautiques éventuellement pratiquées sur ces sites. En outre, dans le cadre de la pêche et de la chasse, la destination des poissons et gibiers d'eau douce issus de ces milieux sera évoquée.

2.2.1. Activités de pêche et consommation des poissons

2.2.1.1. Activités de pêche (ou activités dites halieutiques)

La pêche en eau douce est un ensemble d'activités consistant à capturer des espèces piscicoles dans leur écosystème. Cette activité, notamment en plan d'eau, s'accompagne souvent d'opérations de gestion halieutique (alevinages, rempoissonnements, aménagement de frayères, vidanges d'étangs, etc.).

En dehors des activités d'aquaculture dédiées à la commercialisation, et s'agissant des plans d'eau douce ciblés ici, la réglementation (Livre IV, Titre III du code de l'environnement) distingue la pêche professionnelle et la pêche de loisir. Pour pratiquer la pêche en eau douce (en dehors des plans d'eau classés en eau close, dont les poissons appartiennent aux propriétaires), il faut être adhérent d'une association agréée de pêche et de protection du

milieu aquatique (AAPPMA) et acheter une carte de pêche auprès de celle-ci. Se pratiquant essentiellement à la ligne, elle réunit environ 1,5 million de pêcheurs (qu'ils pratiquent dans les plans d'eau libre ou dans le domaine public fluvial). S'y ajoutent les pêcheurs professionnels (environ 360, dont les trois quarts sont des pêcheurs fluviaux, le quart restant exploite très majoritairement les grands lacs) qui doivent pour exercer cette activité en eau douce détenir une licence, délivrée par le préfet, et sont les seuls pouvant vendre les produits de leur pêche.

Les pêches ayant une finalité de gestion (inventaire piscicole, pêche de sauvetage, etc.) ou une finalité commerciale (pêche de pisciculture d'étang) seront distinguées de celles ayant une finalité récréative.

Il existe quatre sous-types principaux de pêches récréatives pratiquées en étang : les pêches dites « au coup » ciblant des poissons cyprinidés, les pêches dites en « batterie » de la carpe ou de l'esturgeon, et les pêches des espèces prédatrices (ou carnassiers) à poste fixe ou en pêche itinérante. À ces quatre sous-types principaux, s'ajoutent ponctuellement, la pêche des salmonidés dans des plans d'eau dédiés (aussi appelés réservoirs¹⁰) ou dans des plans d'eau généraux alimentés par des empoissonnements temporaires printaniers (truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss* principalement). Ces différents types de pêche récréative peuvent se pratiquer avec une finalité alimentaire : auto-consommation du poisson pêché ou sans finalité alimentaire (en *no-kill* ou en *catch and release*), la pêche est alors dite « de graciation ».

Bien que présentes globalement sur l'ensemble du territoire métropolitain, ces activités récréatives et leurs modalités d'exécution et de gestion restent très hétérogènes en fonction des territoires et des plans d'eau considérés et liés aux pratiques locales et réglementations particulières adoptées par les sociétés/associations de pêcheurs ou d'autres instances (arrêtés municipaux par exemple).

Les espèces pêchées en eau douce varient en fonction du site et des caractéristiques du milieu.

L'analyse du GT se limite aux activités de pêche décrites dans les plans d'eau douce précédemment ciblés (étangs en particulier), lesquelles s'adressent en majorité aux poissons dits d'étangs (différenciés des salmonidés¹¹ et autres poissons d'eau douce, élevés hors étangs).

En ce qui concerne les modalités d'usages, les pêches récréatives peuvent se pratiquer à poste fixe ou en itinérance : (i) depuis la berge (partie émergée) (ex : pêche de la carpe en batterie, pêche à poste fixe des carnassiers), (ii) depuis la berge en pénétrant dans l'eau (en *wading*) (ex : pêche des carnassiers en itinérance), ou (iii) depuis une embarcation (pêche des carnassiers en itinérance).

¹⁰ La pêche en réservoir consiste à pêcher principalement des salmonidés issus de pisciculture, dans un milieu clos, en respectant au maximum le poisson et en le remettant à l'eau dans les meilleures conditions possibles. Ils sont souvent équipés d'aérateurs d'eau.

¹¹ La pêche aux salmonidés, poissons dont la production et la consommation sont les plus importantes, se pratique surtout dans les eaux fraîches et les cours d'eau rapides en tête de bassin versant (eaux dites de première catégorie), et la truite arc-en-ciel (96 % des truites élevées en France) est surtout produite en bassins. La pêche des salmonidés en étang reste marginale et principalement réalisée dans des plans d'eau type réservoir présentant des eaux de bonnes qualités physico-chimiques et/ou bénéficiant d'un taux de renouvellement fréquent, ce qui les rendent peu sujets au développement de conditions hypoxiques.

Certaines pêches (pêche de la carpe en batterie, pêche au coup) s'appuient sur une accoutumance alimentaire des poissons obtenues par des pratiques d'amorçage¹². Les quantités d'appâts organiques utilisés et donc apportés au milieu, dépendent fortement de la gestion et règlement halieutiques mis en place localement (limitation des quantités d'appât/pêcheurs, temps de pêche limité/session, limitation des quantités et fréquence d'empoissonnement, etc.) mais aussi des pratiques halieutiques individuelles d'amorçage.

Concernant la période, ces différentes pêches sont généralement pratiquées d'avril à novembre, avec un pic de fréquentation sur la période estivale (juillet-septembre). Ces périodes varient selon la réglementation qui diffère entre les étangs privés et publics. Les étangs publics sont soumis aux périodes d'ouverture et de fermeture de la pêche selon l'espèce concernée, ainsi qu'aux techniques de pêche autorisées.

2.2.1.2. Destination et consommation des poissons pêchés

De nombreux poissons d'étang peuvent être consommés, qu'il s'agisse : (i) des petits poissons blancs ou cyprinidés/cyprins comme la tanche, le rotengle ou le gardon ; (ii) de poissons de plus grande taille, omnivores comme la carpe commune ou carnassiers comme l'achigan à grande bouche, le brochet commun, le sandre, le silure ou la perche commune. Cette consommation de poissons d'eau douce reste très dépendante de facteurs socio-culturels, et diffère selon les pays voire les régions. En France hexagonale¹³, la culture de consommation de ces espèces existe mais n'est pas très marquée (contrairement aux pays d'Europe de l'Est par exemple). D'autre part, il est à noter que les régions d'étangs (Brenne, Dombes, Lorraine, Sologne, etc.), où persistent, bien qu'en décroissance, des activités de pisciculture, sont potentiellement des régions où la consommation est plus marquée qu'ailleurs.

La pisciculture d'étang est une activité traditionnelle dont la production est notamment valorisée sur le marché du repeuplement en espèces piscicoles (dans des eaux libres ou closes) auprès des associations/fédérations de pêche/propriétaire d'étang, par la vente pour la consommation alimentaire (vente aux particuliers, grossistes ou revendeurs, transformateurs, grandes et moyennes surfaces, poissonniers, restaurateurs, etc.). Le volume des ventes de poissons d'étang par les pisciculteurs pour la consommation humaine, à l'export, pour le repeuplement en milieu naturel et en parcours de pêche était de 2 982 tonnes (par 187 entreprises) en 2020, les deux espèces les plus vendues étant la carpe commune (1 473 tonnes) et le gardon / rotengle (822 tonnes) (AGRESTE 2021).

L'interdiction de vente des produits de la pêche récréative implique que la consommation de ces poissons pêchés concerne principalement les pêcheurs amateurs et leur entourage proche. Le volume de poissons pêchés et consommés dans ce cadre n'est pas connu. Selon une enquête récente relative à la pêche en étangs (Garcia, Choffel, et Nasser 2020), la pêche semble être une activité plutôt pratiquée par loisir que par volonté de déguster les prises et la consommation n'est pas systématique. Les tendances actuelles de pratiques de graciage du poisson pêché sont de plus en plus répandues, et même quasi généralisées pour certaines espèces (pêche de la carpe, la pêche au coup). En outre, seuls 23,8 % des poissons d'eaux douces consommés seraient issus de la pêche de loisir.

¹² Apports renouvelés, sur un point donné d'intérêt, de denrées alimentaires (mélange de farines végétales, graines diverses, asticots/vers, attractants divers, etc.) pour concentrer les poissons, et susciter/maintenir leurs activités alimentaires.

¹³ Le terme hexagonal est employé ici pour considérer la France continentale et la Corse.

2.2.2. Activités de chasse et consommation du gibier chassé

2.2.2.1. Activités de chasse (ou activités dites cynégétiques)

Seules sont évoquées ici les activités de chasse des espèces dites de gibier d'eau, représentées par 37 espèces d'oiseaux d'eau (principalement des anatidés et limicoles, et quelques rallidés) listés en tant qu'espèces chassables dans la réglementation (arrêté du 26 juin 1987¹⁴)¹⁵.

Selon une estimation de l'Office national de la chasse et de la faune sauvage (ONCFS) (Office français de la biodiversité (OFB) depuis le 1^{er} janvier 2020), les espèces les plus chassées pour la saison cynégétique 2013-2014 (Efese 2018) ont été, parmi les anatidés, le canard colvert (1 195 588, [1 059 768 – 1 331 939]) et la sarcelle d'hiver (368 126, [310 910 – 425 342]), parmi les rallidés, la foulque macroule (51 101, [24 786 – 77 416]) et parmi les limicoles, la bécassine des marais (177 888, [145 501 – 10 275]). Une grande partie des canards colverts chassés sont des oiseaux d'élevage lâchés par les sociétés de chasse.

La chasse aux oiseaux d'eau peut s'effectuer dans les milieux aquatiques lenticques (étangs, lacs, réservoirs, marais non asséchés, etc.) mais aussi dans les milieux lotiques (ex : rivières, fleuves) (article L424-6 du code de l'environnement¹⁶). Elle peut s'exercer dans des milieux aquatiques continentaux (ex : Sologne, Brenne, Marne) ou dans des zones estuariennes (ex : Baie de Somme) ou littorales (ex : Nord-Pas de Calais, Charente-Maritime).

Les activités cynégétiques peuvent être complémentaires des activités piscicoles en étangs, mais certains étangs, gérés par des sociétés de chasse, sont voués uniquement à la chasse. La chasse au gibier d'eau (canard de surface, canard plongeurs) est bien implantée dans certaines régions d'étangs, la Sologne en particulier, en plaine du Forez, et plus récemment dans les Dombes (Touchart et Bartout 2020).

Il existe de nombreuses pratiques de chasse au gibier d'eau, s'exerçant avec ou sans chien, qui sont issues d'un héritage ancien et qui restent très dépendantes de la région considérée. Dans les grandes lignes, ces pratiques sont classées en deux catégories : les chasses individuelles (un à trois chasseurs) et les chasses collectives (plus de trois chasseurs en général) à visée commerciale, réalisées sur le domaine privé.

Parmi les chasses individuelles, sont distinguées :

- les chasses dites « à la passée », s'exerçant de manière itinérante : ce sont des chasses de courtes durées (environ deux heures), se déroulant au crépuscule (ou à

¹⁴ Arrêté du 26 juin 1987 fixant la liste des espèces de gibier dont la chasse est autorisée. Le gibier d'eau chassable comporte 37 espèces d'oiseaux : barge à queue noire, barge rousse, bécasseau maubèche, bécassine des marais, bécassine sourde, canard chipeau, canard colvert, canard pile, canard siffleur, canard souchet, chevalier aboyeur, chevalier arlequin, chevalier combattant, chevalier gambette, courlis cendré, courlis corlieu, eider à duvet, foulque macroule, fuligule milouin, fuligule milouinan, fuligule morillon, garrot à l'œil d'or, harelde de Miquelon, huîtrier pie, macreuse brune, macreuse noire, nette rousse, oie cendrée, oie des moissons, oie rieuse, pluvier argenté, pluvier doré, poule d'eau, râle d'eau, sarcelle d'été, sarcelle d'hiver et vanneau huppé. <https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000000296288/2020-09-23/>

¹⁵ Est exclue ici l'espèce ragondin, dont la chasse est majoritairement à visée de régulation et n'est qu'exceptionnellement consommée sous forme transformée (terrines).

¹⁶ <https://www.chasseurdefrance.com/pratiquer/reglementation/>

l'aube) et ciblant des oiseaux (principalement anatidés) sur un trajet journalier (départ/arrivée sur un plan d'eau). Les oiseaux sont tirés en vol ;

- les chasses s'exerçant à poste fixe sous abri¹⁷ : ce sont des chasses qui peuvent être plus longues (10 – 12 h), s'effectuant souvent de nuit¹⁸. Ces chasses consistent à se dissimuler dans des abris situés à proximité et à hauteur du plan d'eau et à tirer les oiseaux une fois posés. La pose des oiseaux chassés est favorisée par l'usage de formes (oiseaux factices) et/ou d'oiseaux vivants dénommés appelants, destinés à attirer par leurs cris, leurs congénères sauvages ; nés et élevés en captivité, les appelants sont positionnés sur le plan d'eau¹⁹, avant la chasse, par le chasseur qui les détient.

En dehors des chasses commerciales, les chasses traditionnelles sont très liées à la migration des différentes espèces d'oiseaux d'eau chassables, et à leurs spécificités locales. Ainsi, les périodes d'ouverture, fixées par arrêtés préfectoraux pourront différer en fonction des espèces chassées et des départements considérés.

Concernant les périodes de chasse, les éléments généraux suivants peuvent être retenus : elles s'étalent globalement du mois d'août au mois de janvier. L'ouverture générale (tout le territoire national) s'échelonne entre les 2 - 3^e ou 4^e week-end de septembre. Il existe des ouvertures anticipées (de début août à mi-septembre) pour coïncider avec les migrations d'oiseaux d'eau (notamment pour les canards de surface et les limicoles). La période d'ouverture de la chasse au gibier d'eau coïncide donc avec les périodes d'épisodes de botulisme en faune sauvage (observés en général entre mi-juillet et mi-octobre en France hexagonale).

2.2.2.2. Destination et consommation du gibier chassé

La vente et la commercialisation du gibier d'eau licitement tué à la chasse sont interdites (article L424-8 du Code de l'environnement), à l'exception²⁰ du canard colvert, le gibier d'eau le plus abondant en France, mais aussi le plus consommé. Cette espèce (avec le statut de « petit gibier d'élevage à plumes », par opposition au « gibier sauvage à plumes » vivant en liberté) est également élevée pour le lâcher (principalement avant l'ouverture de la chasse, afin de renforcer les populations sauvages et augmenter les tableaux de chasse) ou en vue de sa commercialisation pour l'alimentation. Notons en outre que la cession et la commercialisation du gibier à plumes sont assujetties à des exigences en matière d'hygiène alimentaire et de commercialisation applicables aux produits d'origine animale²¹.

¹⁷ Abris dénommés huttes, tonnes, gabions, hutteaux selon les types d'abris et les régions considérés.

¹⁸ Les chasses de nuits sont uniquement autorisées dans une liste de 27 départements métropolitains fixés par la réglementation (ArtL424-5 du code de l'environnement) https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000025454562.

¹⁹ L'oiseau « appelant » (principalement un anatidé) est maintenu à poste fixe, par une attache avec un lest au fond, et une placette de repos en surface.

²⁰ Arrêté du 20 décembre 1983 relatif à la commercialisation de certaines espèces d'oiseaux.

²¹ Arrêté du 18 décembre 2009 modifié relatif aux règles sanitaires applicables aux produits d'origine animale et aux denrées alimentaires en contenant. Voir aussi : Instructions techniques DGAL/SDSSA/2021-634 du 17/08/2021 relative à l'inspection *post mortem* dans les établissements de traitement du gibier sauvage.

Toutes les espèces d'oiseaux sauvages licitement tuées à la chasse peuvent être consommées par le chasseur et ses proches, ou des tiers invités au repas, donc dans le cadre d'un usage domestique privé. Ce gibier, qui ne peut être cédé (à titre gratuit ou onéreux) à l'exception du canard colvert, échappe aux obligations réglementaires précédemment évoquées. Le GT ne dispose pas de données sur les quantités effectivement consommées dans ce cadre.

La commercialisation du gibier tué à la chasse, y compris celle du canard colvert peut être effectuée dans le cadre d'un circuit long ou d'un circuit court. La commercialisation en circuit long implique le passage par un établissement de traitement du gibier sauvage agréé dans lequel le gibier et les viandes de gibier obtenues après la chasse, éventuellement après stockage ou non dans un centre de collecte, sont préparés en vue de la mise sur le marché. Elle bénéficie d'une inspection sanitaire et d'une traçabilité renforcées. Le circuit court permet uniquement la cession directe du gibier par le chasseur au consommateur final, ou à un commerce de détail local livrant directement le consommateur final, ou encore à l'organisateur d'un repas de chasse ou associatif. Dans ce cas, le chasseur (ou 1^{er} détenteur²²) doit livrer des oiseaux entiers et non plumés, soumis à un examen initial par un examinateur référent (chasseur formé) et accompagnés d'une fiche d'accompagnement du gibier permettant d'assurer la traçabilité du lot vendu. Le gibier (petites quantités correspondant à une journée de chasse) peut être cédé (à titre gratuit ou onéreux) à un commerce de détail situé à moins de 80 km à vol d'oiseau du lieu de chasse²³.

2.2.3. Activités de tourisme, sport d'eau douce et loisirs (autres que chasse et pêche)

Les lacs et étangs représentent des lieux de visite et de loisirs prisés par le public (Garcia, Choffel, et Nasser 2020). L'activité touristique sur ces sites, tourisme de nature en particulier, tend à se développer, en complément des activités piscicoles et cynégétiques. Les plans d'eau ouverts au public figurent généralement dans les brochures délivrées par les offices de tourisme.

2.2.3.1. Tourisme de nature

Le tourisme de nature offre sur ces sites, aménagés (sentiers de découverte, postes d'observation de la faune, etc.) ou non, de nombreuses activités, libres ou encadrées. Plusieurs exemples peuvent être cités : les promenades en famille (accompagnées ou non de chiens), les randonnées, les observations d'oiseaux, les sorties-nature animées par des associations de découverte de la nature ou les activités éducatives et de sensibilisation à l'environnement (Efese 2018).

²² Il peut s'agir, en tant que 1^{er} détenteur du propriétaire du terrain de chasse ou d'une association de chasse représentée par son président.

²³ Instruction technique DGAL/SDSSA/2024-457 du 01/08/2024 relative aux règles générales encadrant la mise sur le marché des viandes de gibier sauvage.

2.2.3.2. Activités de baignade et sports d'eau douce

Le territoire français compte un grand nombre de sites (lacs, étangs) consacrés à la baignade en eau douce et aux sports de glisse, activités saisonnières qui se pratiquent essentiellement l'été. Ces activités sont néanmoins soumises à autorisation.

Bien que ces sites, aménagés ou non, soient recensés annuellement par les communes avant le début de chaque saison balnéaire, l'évaluation du nombre exact de sites de baignade à l'échelle du territoire national apparaît complexe à établir, d'autant que les sites non aménagés ne sont pas répertoriés. Toutefois, en s'appuyant sur les contrôles sanitaires qu'ils effectuent, les services de la Direction générale de la santé et des Agences régionales de santé estiment que la France comptait, en 2015, 1 277 sites de baignade en eau douce (Efese 2018). Aucune donnée statistique ne permet en revanche d'estimer le nombre de baigneurs en eau douce sur l'ensemble du territoire, de même que les pratiques non encadrées dans des sites plus confidentiels en domaine privé ou public.

Les sports de glisse, de plus en plus représentés en eau calme par le *stand up paddle*, et promenades en pédalo ou canoë sont souvent autorisés et pratiqués sur les sites de baignade. S'y ajoutent de plus en plus sur les plans d'eau, destinés notamment aux enfants, des parcours aqua-ludiques composés de jeux gonflables sur eau.

Outre la natation, les autres activités sportives regroupent principalement canoë-kayak, aviron, jet-ski, ski nautique, plongée en eau douce et sports de voiles (dériveur, planche à voiles, catamaran, etc.). Elles sont accessibles sur certains lacs et plans d'eau, disposant notamment d'équipements sportifs adaptés (Efese 2018).

L'expertise a été focalisée sur les plans d'eau douce continentaux, étangs en particulier. Les activités humaines en lien avec ces milieux englobent des pratiques traditionnelles telles que la pêche, la chasse et des loisirs touristiques et sportifs. Les différents types de pêche récréatives peuvent se pratiquer avec une finalité alimentaire (auto-consommation du poisson pêché) ou sans finalité alimentaire (pêche de gracieuse). La consommation de poissons issus de ces milieux reste moins marquée en France que dans d'autres pays européens (Europe de l'Est), et concernent majoritairement des espèces à plus forte valeur gastronomique (perche, brochet commun, sandre, etc.). La chasse concerne principalement les oiseaux d'eau, souvent pour consommation familiale. Par ailleurs, ces milieux attirent un public pour des activités de tourisme de nature, baignade ou sports nautiques (kayak, *paddle*, etc.), participant au développement touristique local. Toutefois, ces usages exposent les individus et les animaux domestiques qui sont susceptibles de les accompagner à des dangers sanitaires, comme par exemple *C. botulinum* et les toxines botuliques qui font l'objet de cette saisine.

3.Éléments d'information sur le danger

3.1. Caractéristiques de *Clostridium botulinum* et des toxines botuliques et données de résistance (rappels)

Les données présentées dans ce chapitre résument et actualisent celles figurant dans le rapport d'expertise collective « *Clostridium botulinum* : mise à jour des connaissances sur les différentes formes des types C, D, mosaïques C/D et D/C et E » (Anses 2021a).

3.1.1. Caractéristiques de *Clostridium botulinum* et des toxines botuliques

3.1.1.1. Caractéristiques générales

Clostridium botulinum fait partie d'un groupe de bactéries anaérobies²⁴ à coloration de Gram positive, en forme de bâtonnets, mobiles, formant des spores et de distribution ubiquiste. La caractéristique commune des espèces du genre *Clostridium* est leur capacité à synthétiser, en phase de croissance, une neurotoxine de nature protéique, une toxine botulique (BoNT). Cette toxine est responsable du botulisme, une affection neurologique grave décrite chez les mammifères (dont les humains), les oiseaux et les poissons, caractérisée par le développement d'une paralysie musculaire flasque pouvant conduire à la mort.

Les principales caractéristiques différenciant ces bactéries et les toxines qu'elles produisent sont résumées dans le Tableau 2. Le Tableau 2 mentionne également les espèces de *Clostridium* apparentées aux *C. botulinum*. Les espèces apparentées correspondent à des bactéries qui ont un profil biochimique et protéolytique similaire à celui des clostridies toxigènes mais qui ne peuvent pas produire de toxine botulique.

Les souches bactériennes du genre *Clostridium* productrices de toxine botulique sont classées en six groupes physiologiquement et phylogénétiquement distincts, identifiés I, II, III, IV, V et VI en fonction de leurs propriétés biochimiques. Ces souches sont réparties en sept toxinotypes historiques identifiés A, B, C, D, E, F, G²⁵ selon le type de toxine qu'elles produisent, auxquels se rajoutent les toxinotypes H et X²⁶. Leur caractérisation a été initialement établie sur la base de la neutralisation de la toxicité par des antisérums spécifiques à l'aide d'un test biologique chez la souris et d'antisérums neutralisants monovalents. Le séquençage des gènes *bont* codant les BoNT révèle au moins 40 sous-types, se distinguant par des différences de séquences d'acides aminés (Barash et Arnon 2014; Peck et al. 2017; Zhang et al. 2018; Poulain et Popoff 2019). Certains sous-types dits « mosaïques » peuvent résulter de recombinaisons génétiques entre des gènes *bont* de types différents, comme c'est le cas entre les types C et D (cf. § 3.1.1.2.1).

²⁴ Les souches de *Clostridium botulinum* sont des anaérobies strictes, mais certaines souches peuvent néanmoins se développer lorsqu'un faible taux d'oxygène est présent.

²⁵ Initialement identifiées comme *C. botulinum*, les souches de toxinotype G sont identifiées comme *C. argentinense*.

²⁶ Les toxines de type H et X sont co-produites avec un autre type de toxine qui est majoritaire, la toxine X étant de surcroît atoxique pour les vertébrés (Gregg et al. 2024).

Tableau 2. Classification et caractéristiques physiologiques des *C. botulinum* et des espèces de *Clostridium* neurotoxigènes en conditions de laboratoire.

(Adapté de Peng Chen et al. (2012), Lund et Peck (2013), Popoff (2017), Moore et Lacey (2019) et Anses (2021a))

Groupe	Groupe I <i>C. botulinum</i> Protéolytique	Groupe II <i>C. botulinum</i> Non protéolytique	Groupe III <i>C. botulinum</i> Non protéolytique	Groupe IV <i>C. argentinense</i> Protéolytique	Groupe V <i>C. butyricum</i> Non protéolytique	Groupe VI <i>C. baratii</i> Non protéolytique
Type de toxines	A, B, F	B, E, F	C, D	G	E	F
Sous-types de toxines	A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7, A8, B1, B2, B3, B5, B6, B7, B8, bivalent B (Ba, Bf, Ab), F1, F2, F3, F4, F5, F8, X	E1, E2, E3, E6, E7, E8, E9, E10, E11, E12, B4 ou non protéolytique B, F6 ou non protéolytique F	C, C/D, D, D/C	G	E4, E5	F7
Support des gènes codant les toxines	Chromosome/plasmide	Chromosome/plasmide	Phage	Plasmide	Plasmide	Plasmide
Bactéries apparentées ou souches non toxigènes*	<i>C. sporogenes</i>	<i>C. taeniosporum</i>	<i>C. novyi</i> <i>C. haemolyticum</i>	<i>C. subterminale</i> <i>C. proteolyticus</i> <i>C. schimacherense</i>	<i>C. butyricum</i>	<i>C. baratii</i>
Action saccharolytique	-	+	-	-	+	+
Croissance & toxigenèse						
Température optimale (°C)	35-40	25-30	37-40	37	30-37	30-45
Température minimale (°C)	10	2,5	15	ND	12	10
pH minimum	4,6	5	5,1	4,6	4,8	3,7
a _w minimale	0,94	0,97	0,97	0,94	ND	ND
% NaCl inhibant la croissance	10	5	5	10	ND	8,5

Légende : « + » : présence ; « - » : absence ; ND : non déterminé ; a_w : activité de l'eau (indique la disponibilité de l'eau d'un produit pour des réactions chimiques, biochimiques, un changement d'état ou un développement de micro-organismes).

* Les espèces apparentées ou souches non toxigènes correspondent à des bactéries qui ont un profil biochimique et protéolytique similaire à celui des clostridies toxigènes mais qui ne peuvent pas produire de toxine botulique. Pour *C. butyricum* (groupe V) et *C. baratii* (groupe VI), les souches toxigènes sont celles qui ont acquis les plasmides portant le gène *bont*.

Quel que soit le type ou le sous-type, les neurotoxines botuliques ont le même mécanisme d'action qui conduit à l'inhibition de la libération de l'acétylcholine (Lindström et Korkeala 2006; Tehran et Pirazzini 2018) provoquant les paralysies musculaires. Elles sont constituées d'une chaîne polypeptidique de 50 kDa dite légère (LC pour *light chain*) et d'une chaîne de 100 kDa dite lourde (HC pour *heavy chain*) reliées entre elles par un pont disulfure. La chaîne légère (métalloprotéase) porte l'activité spécifique de la toxine. La chaîne lourde, subdivisée en deux domaines fonctionnels, permet la fixation sur des récepteurs spécifiques des terminaisons nerveuses aux jonctions neuro-musculaires, l'internalisation dans le cytoplasme des cellules nerveuses et la translocation de la chaîne légère du compartiment vésiculaire vers le cytosol où elle agit sur sa protéine cible du complexe SNARE (*soluble N-ethylmaleimide-sensitive fusion protein attachment receptor*) dont le clivage inhibe la libération de l'acétylcholine. Chaque BoNT a comme substrat un SNARE spécifique et/ou un site de clivage propre.

D'un point de vue biologique, la toxicité, dont dépend le développement du botulisme, varie selon le type ou sous-type de toxine, l'espèce contaminée et la voie d'introduction de la toxine. Elle est souvent exprimée en multiples de la dose létale (DL) déterminée pour la souris (MLD, pour *mouse lethal dose*) inoculée par voie intrapéritonéale. Les souches de *C. botulinum* appartiennent aux groupes I, II, et III en fonction de leurs propriétés biochimiques et les BoNTs produites sont réparties dans les six types identifiés A, B, C, D, E et F. Rappelons que des BoNTs de type E et de type F sont aussi produites, respectivement, par *C. butyricum* (groupe V) et *C. baratii* (groupe VI). En général, les groupes I, II, V et VI sont surtout impliqués dans le botulisme chez les humains alors que le groupe III domine dans le botulisme animal. Aucun cas humain n'a été associé à la toxine G produite par *C. argentinense*.

3.1.1.2. Principales particularités des souches des types C, D ou mosaïques C/D et D/C et du type E

Le cadre de l'expertise défini par la saisine est limité aux épisodes de botulisme affectant la faune sauvage notamment les oiseaux et les poissons en France. Bien que de rares foyers de botulisme de type A aient été décrits sur des laridés aux États-Unis (Rogers et al. 2021), seules seront rappelées ici les principales particularités des toxinotypes de *C. botulinum* habituellement mis en cause chez les oiseaux, c.-à-d. les types C, D ou leurs variants mosaïques C/D et D/C et le type E.

Une autre espèce, *C. butyricum* (groupe V), est capable de produire de la toxine E. Elle a été identifiée dans les sols et parfois incriminée dans des cas de botulisme intestinal de l'enfant (McCroskey et al. 1986) et de l'adulte humain (Harris, Anniballi, et Austin 2020) mais n'a jamais été associée jusqu'à présent, à des épisodes de botulisme pisciaire ou aviaire. Dans le reste du rapport le botulisme de type E sera donc considéré comme étant associé à *C. botulinum*.

Les données relatives à la résistance des formes végétatives, des spores et de la toxine (thermorésistance en particulier), importantes à considérer pour la maîtrise de l'agent pathogène dans les denrées alimentaires pour la prévention du botulisme alimentaire, sont rassemblées dans la seconde partie de ce chapitre (cf. § 3.1.2).

3.1.1.2.1. *Toxinotypes C, D et leurs variants mosaïques C/D et D/C*

Les souches de *C. botulinum* produisant les toxines C, D et leurs variants mosaïques C/D ou D/C sont classées dans le groupe III.

Particulièrement exigeantes en matières organiques, les souches de *C. botulinum* du groupe III peuvent être détectées dans des sols riches en matières organiques en décomposition, en particulier dans les boues et sédiments des zones humides d'eau douce et, dans une moindre mesure, dans des environnements aquatiques marins (Wobeser, Marsden, et MacFarlane 1987).

Ces souches, mésophiles, peuvent se développer à partir de 15 °C, jusqu'à 45 °C, (avec une température optimale de croissance de 37 à 40 °C) et leur croissance n'est pas inhibée jusqu'à une concentration de 2,5 à 3 % de NaCl (Segner, Schmidt, et Boltz 1971). La production de toxine est observée à partir de 15 °C.

D'un point de vue génomique, *C. botulinum* du groupe III est différent de *C. botulinum* des groupes I et II. Le support des gènes impliqués dans la toxinogénèse est également différent. Les gènes *bont C* et *bont D* sont localisés sur des phages non intégrés au chromosome bactérien (Oguma 1976; Sakaguchi et al. 2005; Le Gratiot et al. 2020). La lysogénie est instable et le phage peut être aisément perdu au cours de la culture, ôtant aux souches la capacité de produire la neurotoxine et les rendant difficilement distinguables des souches de *C. novyi* et *C. haemolyticum*, espèces bactériennes du même groupe génétique ne produisant pas de neurotoxine botulique²⁷ et présentes dans les sols. Sur la base de la comparaison des génomes de *C. botulinum* du groupe III, *C. novyi* et *C. haemolyticum* et du fait de leur proximité génétique, le regroupement de toutes ces souches sous le nom de *Clostridium novyi sensu lato* (Skarin et al. 2011) a été proposé.

Les structures des BoNTs correspondant aux types C, D et leurs variants mosaïques C/D et D/C, sont schématisées dans la Figure 1 présentée ci-après. Les BoNTs C/D et D/C sont des toxines hybrides issues de recombinaisons génétiques entre les types C et D (Woudstra et al. 2012; Peng Chen et al. 2012; Hansbauer et al. 2016; Maeda et al. 2023). Dans la nomenclature, la première lettre désigne la partie porteuse de l'activité catalytique de la toxine, et la seconde la partie permettant la fixation au récepteur. La Figure 1 présente en outre un nouveau variant du type C, récemment détecté au Japon dans des cas humains de botulisme alimentaire (Maeda et al. 2023) et également identifié en France chez des oiseaux dans un foyer et chez des porcs en 2023 (Le Maréchal et al. 2024). Ce variant proche du type C s'en distingue par la présence dans le domaine de liaison au récepteur de la chaîne lourde d'une séquence partielle commune avec D/C.

²⁷ À la différence de *C. botulinum*, les deux autres espèces bactériennes ne produisent pas de toxine botulique, mais produisent d'autres toxines responsables de leur pouvoir pathogène.

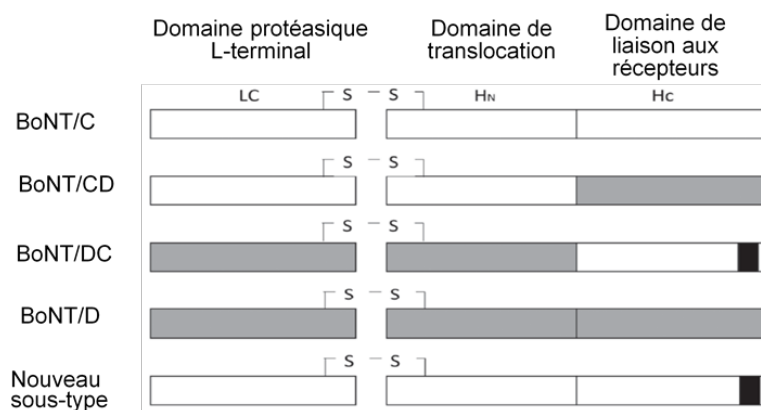


Figure 1. Représentation schématisée des domaines fonctionnels des BoNTs C, D, C/D et D/C et de la BoNT récemment identifiée dans des cas de botulisme alimentaire au Japon. D'après Maeda et al. (2023).

Les zones grisées et blanches désignent respectivement les séquences des BoNTs D et C. Les zones noires indiquent la séquence partielle de la BoNT/DC. Des couleurs similaires ont été utilisées dès lors que le domaine présente une homologie supérieure à 90 % au niveau protéique. « LC » désigne la chaîne légère ; « HN » et « HC » désignent respectivement les domaines N-terminal et C-terminal de la chaîne lourde.

Les variants mosaïques C/D possèdent la chaîne légère et le domaine N-terminal de la chaîne lourde de la toxine C, et le domaine C-terminal du type D. À l'inverse, les variants mosaïques D/C possèdent la chaîne légère et le domaine N-terminal de la chaîne lourde de la toxine D, tandis que le domaine C-terminal de la chaîne lourde, tout en se rapprochant du domaine C-terminal dérivé de celui du type C, en diffère néanmoins par une séquence partielle spécifique.

Le nouveau variant mosaïque, décrit par Maeda et al. (2023), se rapproche de la structure du type C tout en présentant dans le domaine C-terminal de la chaîne lourde une séquence partielle commune avec D/C.

Jusqu'au début des années 2010, les types toxiques étaient déterminés uniquement par séroneutralisation sur souris avec des anticorps monovalents anti-C et anti-D ou par des tests PCR (*Polymerase chain reaction*) ne permettant pas d'identifier les types mosaïques ; pour cette raison, les souches mosaïques C/D et D/C n'étaient pas identifiées et étaient alors attribuées, selon les cas, au type C, D ou type inconnu. La publication des séquences caractéristiques des types et sous-types identifiés (Peck et al. 2017) et la systématisation depuis le début des années 2010 d'outils PCR permettent aux laboratoires de disposer des amorces et sondes ciblant les zones spécifiques des toxines C, D, C/D et D/C (y compris celles du variant récemment décrit) sur le gène *bont*, et permettent donc actuellement de les identifier.

D'un point de vue biologique, tous ces toxinotypes peuvent être détectés chez les oiseaux, mais c'est le sous-type C/D qui est le plus fréquemment identifié comme responsable des épizooties dans l'avifaune sauvage régulièrement décrites en Europe (Woudstra et al. 2012; Bano et al. 2013). Il est probable que, par le passé, des foyers en Europe comme dans d'autres parties du monde attribués chez les oiseaux sauvages au type C, l'aient été à tort et soient en fait dus au sous-type C/D (Takeda et al. 2005; Anza et al. 2014; Circella et al. 2019). Le type C et le sous-type D/C sont, en revanche, plutôt associés à des cas de botulisme chez des mammifères (Fillo et al. 2021). Les données expérimentales relatives aux doses toxiques par voie orale (mode de contamination habituel chez les animaux) des BoNTs pour la faune sauvage sont anciennes, limitées à quelques espèces, souvent hétérogènes, et portent

essentiellement sur des souches de type C. Comme le rapportent Rocke et Bollinger (2007), la DL₅₀ orale chez les oiseaux varie, selon les publications de 500 MLD chez les foulques macroules *Fulica americana* à 2 500 000 MLD chez les goélands et les corbeaux. La toxicité orale chez la plupart des oiseaux d'eau varierait de 14 000 à 80 000 MLD, ce qui reviendrait en fonction du poids à une toxicité de l'ordre de 36 000 à 43 000 MLD₅₀ / kg (Rocke et al. 2000). La dose létale chez le canard colvert adulte a été évaluée par Duncan et Jensen (1976) entre 20 000 et 100 000 MLD et par Hubálek et Halouzka (1991) entre 5 000 et 500 000 MLD₅₀ (50 000 en moyenne).

La sensibilité des humains à l'ingestion des toxines C, D et leurs variants mosaïques est jugée très faible au regard des données épidémiologiques qui soulignent la rareté des cas (cf. liste détaillée dans le rapport socle (Anses 2021a) ; une seule publication nouvelle impliquant la nouvelle toxine C a été décrite en 2023 (Maeda et al. 2023)). Toutefois, aucune dose létale n'a été définie chez les humains pour ces différentes toxines. Les doses létales des toxines botuliques C, D, C/D et D/C chez l'humain pourraient être néanmoins considérées proches de celles évaluées chez des primates non humains, soit de l'ordre de 100 000 à 250 000 MLD / kg pour la toxine C et 600 000 MLD / kg pour la toxine D, comme établies chez des singes rhésus inoculés par voie gastrique (Dolman et Murakami 1961). Un épisode de botulisme C/D a été décrit chez des mandrills (3 animaux) dans un zoo à Berlin, dont l'origine suspectée était un canard malade (présentation M. Dorner, WS botulisme 2022). Très faiblement actives par voie digestive, ces toxines présentent pourtant un effet démontré *in vitro* sur des cultures de cellules nerveuses ou sur des muscles squelettiques isolés et *in vivo* par injection dans des muscles squelettiques chez des volontaires, et peuvent être préconisées par injection pour le traitement des dystonies musculaires focales. À cet égard, la BoNT C a une activité comparable à celle de la BoNT A, contrairement à la toxine D dont l'activité est 25 à 100 fois plus faible (Coffield et al. 1997; Eleopra et al. 1997; 2013; Pellett et al. 2015).

3.1.1.2.2. Toxinotype E

La toxine E est produite par des souches de *C. botulinum* du groupe II et des souches du groupe V identifiées comme *C. butyricum*. Comme indiqué précédemment, *C. butyricum* n'a pas été associé jusqu'à présent au botulisme aviaire et ne sera donc pas traité par la suite.

C. botulinum de type E est une bactérie dont la particularité est d'être étroitement associée, aux écosystèmes aquatiques (mers, lacs et rivières) (Huss 1980). Elle est communément isolée dans les sédiments et le tube digestif des poissons (Dolman 1957; Espelund et Klaveness 2014; Haagsma 1991; Palmer et al. 2019). A l'exception de l'isolement d'une souche en Argentine (Raphael et al. 2012), la détection du type E n'a été rapportée que dans les zones septentrionales de l'hémisphère nord (Amérique du Nord, Europe et Asie), y compris dans les zones arctiques, où il prédomine dans les sédiments marins des zones côtières et dans les estuaires (Leclair et al. 2013; Huss 1980; Yamakawa et Nakamura 1992). Il est aussi présent dans les environnements d'eau douce, comme le montrent les épisodes botuliques observés dans la région des Grands Lacs en Amérique du Nord (Getchell et Bowser 2006; Rocke et Bollinger 2007; Chipault et al. 2015). Il est aussi isolé, par exemple au Japon, bien en amont dans les sédiments de certaines rivières et les sols à proximité (Yamakawa et Nakamura 1992).

Les conditions de croissance bactérienne des souches de *C. botulinum* de type E sont celles correspondant aux bactéries du groupe II (non protéolytique, saccharolytique). *C. botulinum* de type E se singularise par ses propriétés psychrotrophes, lui permettant de se multiplier à

partir d'une température de 2,5 °C. Sa croissance est optimale entre 25 et 30 °C (Tableau 2), et possible, pour certaines souches, jusqu'à 41 °C (Grecz et Arvay 1982 ; Derman et al. 2011). La toxine peut être produite à partir de 2,5 °C. Par ailleurs, les souches tolèrent pour leur croissance des concentrations en NaCl atteignant 5 % (Tableau 2).

Les souches de *C. botulinum* du groupe II (souches non protéolytiques) se répartissent en trois toxinotypes (B, E ou F) selon les caractéristiques des BoNTs qu'elles produisent. Les souches de type E, ciblées par cette saisine, forment un sous-ensemble particulier au sein de ce groupe (Stringer et al. 2013). La toxine E est différenciée en 12 sous-types dont dix (E1 à E3 et E6 à E12) sont produits par *C. botulinum* et deux sous-types (E4 et E5) sont produits par *C. butyricum* (Stringer et al. 2013; Peck et al. 2017).

D'un point de vue biologique, le botulisme de type E est principalement décrit chez des poissons, des oiseaux d'eau et des humains.

Les études expérimentales chez les poissons confirment, malgré une variabilité importante selon l'espèce, leur sensibilité à la toxine E, estimée par exemple, après administration digestive, à 90 MLD chez le saumon argenté juvénile de 12 - 15 g dans une eau à 15 °C (Eklund et al. 2004) et à 69 MLD₅₀ chez une carpe de 292 g (soit 236 MLD₅₀ / kg) dans une eau à 16 °C (Haagsma 1975). Peu de données sont disponibles chez les oiseaux sauvages ; chez le canard colvert, comme rapporté par Rasetti-Escargueil, Lemichez, et Popoff (2019), la DL orale pour la BoNT E a été évaluée à 200 000 MLD.

Faute de données disponibles sur la dose létale par voie digestive de la BoNT E chez les humains, Yule, Austin, et al. (2006) ont proposé d'extrapoler aux humains la dose létale de toxine E par ingestion estimée par Dolman et Murakami (1961) entre 1 500 et 2 500 MLD / kg sur des primates non humains. La dose létale par voie sous-cutanée est estimée entre 150 et 250 MLD / kg, soit 10 fois plus faible que par voie orale (Dolman et Murakami 1961).

3.1.2. Données de résistance et efficacité des procédés de traitement dans les matrices alimentaires (appliquées au gibier à plumes et aux poissons)

Dans la production d'aliments, la maîtrise des dangers biologiques repose sur des mesures d'hygiène :

- de rang I : elles sont d'ordre préventif visant à empêcher ou limiter le transfert des agents de leur source vers leur cible ;
- de rang II : elles sont à la fois préventives et curatives visant à empêcher l'amplification du danger (inhiber la croissance, stopper la toxinogénèse, etc.) ;
- de rang III : elles sont curatives et vont inactiver ou éliminer le danger totalement ou suffisamment. Il s'agit de traitements des produits de nature physique le plus souvent mais aussi chimique, voire biologique.

Dans le cadre strict de cette saisine, portant sur le gibier à plumes et les poissons, les mesures de rang I ne sont pas pertinentes. Considérant que le danger (cellules, spores, toxines) peut être présent dans les parties comestibles, les principales mesures de maîtrise viseront :

- au rang II, à limiter/empêcher la germination des spores et la multiplication de la bactérie et concerneront les moyens et les modes de conservation des prises (gibiers à plumes et poissons) ;
- au rang III, à inactiver tout ou partie du danger et concerneront les modes de préparation / cuisson des parties comestibles.

3.1.2.1. Prévention de la croissance et de la toxinogénèse

Le potentiel de croissance de la bactérie dans les aliments est déterminé, soit par une évaluation de la croissance proprement dite, soit par la détection de la neurotoxine. Dans cette section, la croissance regroupera indistinctement multiplication et toxinogénèse.

La maîtrise de la chaîne du froid, qui débute réglementairement à toute température inférieure ou égale à 8 °C²⁸, est un excellent moyen d'empêcher l'amplification du danger, au regard des types C, D et mosaïques C/D et D/C. Pour ces types, la température minimale de croissance/toxinogénèse se situe vers 15 °C (Tableau 2). Nonobstant, Popoff (2017) attire l'attention sur l'éventuelle possibilité de croissance/toxinogénèse autour de 10 °C en présence de forts *inocula* et pour des temps d'incubation longs (3 à 4 semaines). Ce scénario ne semble pas correspondre à des circonstances raisonnablement prévisibles pour les prises chassées ou pêchées. Le cas du type E est plus problématique du fait de son caractère psychrotrophe, le Tableau 2 indiquant que la croissance /toxinogénèse est possible, même si vraisemblablement très ralentie, à partir de + 2,5 °C.

Les autres facteurs de multiplication ou de survie habituellement décrits concernent le pH avec la barrière du pH 4,5 au-dessous duquel la croissance et la toxinogénèse sont inhibées pour tous les types. Il peut être noté également des effets inhibiteurs très significatifs du sel (à des concentrations supérieures à 5 %) et des a_w inférieures à 0,94 (Tableau 2). Il est à noter que ces conditions physico-chimiques ne sont pas rencontrées au cours de la préparation des prises. De fait, dans tous les cas, la mise sous couverture froide des prises jusqu'à leur préparation doit être systématique.

3.1.2.2. Destruction thermique

Le comportement des micro-organismes au regard de la chaleur, et le résultat d'un traitement thermique sur ceux-ci, peuvent être entièrement caractérisés par l'intermédiaire des paramètres D_T et z . Le temps de réduction décimale, D_T , est défini comme la durée de traitement thermique, exprimée généralement en minutes, nécessaire à la température T pour diviser par dix la charge microbienne. Le paramètre z est l'élévation de température en °C réduisant D_T d'un facteur 10. Ces deux paramètres D_T et z permettent de prévoir l'inactivation d'une souche microbienne par un couple temps/température donné.

L'utilisation de ces paramètres figure dans le rapport de l'Anses de juin 2021 (Anses 2021a). La plupart des travaux sur le comportement à la chaleur ont été réalisés sur le type A ; peu de publications existent pour les autres types (Munir et al. 2023).

3.1.2.2.1. *Inactivation thermique des spores de C. botulinum dans les aliments*

Les paramètres de résistance thermique des spores de *C. botulinum* sont bien documentés pour les groupes I et II (Tableau 3.). Ainsi, $D_{121\text{ °C}}$ est estimé, à partir de 394 données, à 0,19 min pour les spores des *C. botulinum* protéolytiques, avec une valeur de z de 11,3 °C (Diao, Andre, et Membré 2014). Pour les spores de *C. botulinum* non protéolytiques ($n = 549$), les estimations de $D_{80\text{ °C}}$ pour les types non protéolytiques B, E et F sont comprises entre 1 min et 1,5 min avec des valeurs de z comprises entre 6,5 °C et 6,9 °C (Wachnicka et al. 2016).

²⁸ Températures maximales de transport, stockage et entreposage variables selon les denrées alimentaires.

Les valeurs disponibles pour les spores des souches du groupe III ont été publiées par Segner et Schmidt (1971) : les estimations de $D_{101\text{ °C}}$ pour les souches de type C testées sont comprises entre 0,07 et 2,44 min avec des valeurs de z comprises entre 5,0 et 6,2 °C. Ceci a été confirmé par Portinha et al. (2022). Dans cette dernière étude portant sur la résistance de spores de type C, les valeurs de $D_{90\text{ °C}}$ (deux souches étudiées) étaient de 11,5 et 11,9 min (Portinha et al. 2022). Ces paramètres de résistance suggèrent une résistance supérieure à celle des spores des *C. botulinum* non protéolytiques (Groupe II) (Tableau 3).

Le procédé thermique permettant la maîtrise des spores du groupe I (de type appertisation avec F_0 supérieure à 3 min²⁹) permet également la maîtrise des spores des souches des autres groupes, en particulier celles du groupe III. S'agissant de l'inactivation des spores de *C. botulinum* du type II, les lignes directrices les plus abouties sont relatives aux produits alimentaires conditionnés sous vide ou sous atmosphère modifiée et conservés à basse température proposées par l'*Advisory Committee on the Microbiological Safety of Food* (ACMSF 2020). Un traitement thermique de 90 °C pendant 10 min, ou des traitements équivalents présentés dans le document, permettent une inactivation d'au moins six réductions décimales, propre à assurer une durée de vie³⁰ prolongée de ces aliments à basse température.

3.1.2.2.2. Inactivation des toxines

Les toxines botuliques sont plus facilement inactivées par la chaleur que les spores. Cependant, les données sur leur inactivation apparaissent très diverses dans la littérature scientifique selon les conditions expérimentales, le pH et la composition du milieu utilisé, entre autres (Tableau 3.). De plus, l'inactivation n'intervient pas de manière linéaire, ce qui ne permet pas les inter-comparaisons (Popoff 2017).

Pour Siegel (1993), la valeur $D_{76,7\text{ °C}}$ du titre des toxines botuliques A et B (chaleur humide) varie de 1 à 8 min selon le pH et la composition de l'aliment. À un pH de 4,2, les temps de destruction de la toxine A (de 100 000 DL₅₀/g à un niveau indétectable) sont de 15 min à 79 °C et 5 min à 85 °C.

La toxine de type E est plus thermosensible que celles de types A et B ; le même résultat que ci-dessus est obtenu en 5 min à 58 °C et en 10 min à 62 °C, en tampon phosphate à pH 7,2. Elle est plus stable à pH acide. Dans une préparation à base de saumon, il faut 5 min à 79 °C ou 10 min à 74 °C (Popoff 2017).

Dans leur revue de 1979, Roberts et Gibson soulignent que la résistance thermique des toxines botuliques de types C et D est supérieure à celle des toxines de types A, B et E. Si pour ces dernières, un traitement de 2 min à 70 °C suffit pour les inactiver, il faut atteindre 90 °C pour obtenir le même résultat en 2 min sur les toxines de types C et D.

Les températures et durées de traitement mises en œuvre dans les essais évaluant l'inactivation par la chaleur des toxines botuliques sont bien supérieures à celles déclenchant la sensation de brûlure chez l'être humain (50-60 °C). Ainsi, le simple réchauffage d'un aliment à ces températures est insuffisant pour inactiver les toxines botuliques.

²⁹ F_0 est défini comme le nombre de minutes équivalentes de stérilisation à la vapeur à 250 °F (121,1 °C) délivré à une charge.

³⁰ La durée de vie d'un aliment est définie comme la période durant laquelle l'aliment répond à des spécifications s'agissant de sa sécurité (innocuité) et de sa salubrité (absence d'altération), dans les conditions prévues de stockage et d'utilisation, y compris par le consommateur.

Tableau 3. Impact du traitement thermique sur *C. botulinum* (spores et toxines)¹.

Groupe / type	Forme	Matrice	Impact du traitement	Références
I/A,B,F	Spore	Tampon (pH = 7)	$D_{121,1}^{\circ\text{C}} = 0,21 \text{ min}$ $z^* = 10^{\circ\text{C}}$ (3 min, 12 D)	Kim et Foegeding (1993)
I/A,B,F	Spore	Divers (méta-analyse)	$D_{121,1}^{\circ\text{C}} = 0,19 \text{ min}$ $z = 11,3^{\circ\text{C}}$	Diao, Andre et Membré (2014)
II/B,E,F	Spore	Divers milieux et matrices alimentaires	$D_{80}^{\circ\text{C}} = 1 - 1,5 \text{ min}$ $z = 6,7^{\circ\text{C}}$	Wachnicka et al. (2016)
III/C	Spore	Tampon phosphate (pH = 7)	$D_{101}^{\circ\text{C}} = 0,71 \text{ min}^{**}$ $z^{**} = 10$	Segner et Schmidt (1971)
III/C	Spore	Eau déminéralisée	$D_{90}^{\circ\text{C}} = 11,5 - 11,9 \text{ min}$	Portinha et al. (2022)
I/A,B	*Toxine	Divers milieux et matrices alimentaires	$D_{76,7}^{\circ\text{C}} = 1 \text{ à } 8 \text{ min}$	Siegel (1993)
II/E	*Toxine	non précisée	70 °C / 2 min : inactivation totale	Prévot et Brygoo (1953) cités par Roberts et Gibson (1979)
III/C	Toxine	non précisée	70 °C / 2 min : 90 % d'inactivation 80 °C / 2 min : 99 % d'inactivation 90 °C / 2 min : inactivation totale	Prévot et Brygoo (1953) cités par Roberts et Gibson (1979)
III/D	Toxine	non précisée	90 °C / 2 min : inactivation totale	Prévot et Brygoo (1953) cités par Roberts et Gibson (1979)

¹ Il est convenu en microbiologie des aliments (recherche et dénombrement de spores)³¹ qu'un chauffage de 10 min à 80 °C élimine toutes les cellules végétatives ; * D_T est le temps de réduction décimale à la température T et z est l'élévation de température en °C réduisant D_T d'un facteur 10 ; ** Moyenne des valeurs de $D_{101}^{\circ\text{C}}$, $n = 6$ (Segner et Schmidt, 1971). Valeur de z estimée sur l'ensemble des données de la publication.

3.1.2.3. Conclusion sur les mesures de maîtrise de *C. botulinum* dans les aliments

Outre les mesures prises pour limiter la présence de *C. botulinum* dans les matières premières, la maîtrise de cette bactérie dans les denrées alimentaires et d'origine animale (DAOA) peut être obtenue par l'action combinée de plusieurs mesures d'hygiène et de conservation : traitement thermique, diminution de l'activité de l'eau (a_w) (ajout de sel ou séchage), ajout de nitrites ou d'autres conservateurs, fumage, réfrigération et/ou limitation de la durée de vie (Lund et Peck 2013). L'état actuel des connaissances ne permet pas de remettre en cause la

³¹ NF V08-602 « Microbiologie des aliments – dénombrement des spores dans les produits alimentaires avant traitement d'appertisation, surfaces et eaux de process – dénombrement des spores aérobies mésophiles, anaérobies mésophiles, aérobies thermophiles, anaérobies thermophiles par comptage de colonies. »

conclusion de Roberts et Gibson (1979) selon laquelle les mesures de maîtrise appliquées dans l'industrie agroalimentaire pour maîtriser les *C. botulinum* de types A et B seront efficaces pour les types C et D. Ceci semble pouvoir être affirmé pour les traitements thermiques des cellules végétatives et les spores. Les spores du groupe I sont souvent considérées comme une référence de résistance et cela a conduit, par exemple, au concept du 12 D³² pour les barèmes d'appertisation. Leur inactivation par un procédé thermique permet aussi celle des spores des souches des autres groupes, en particulier des souches du groupe III. Les toxines botuliques des types C et D semblent plus thermorésistantes que celles des types A, B, E. Cependant, des traitements thermiques supérieurs à 90 °C / 2 min permettent l'inactivation totale de ces toxines. La toxine E semble légèrement plus sensible que le type A permettant de tenir le même raisonnement pour les traitements thermiques (spores et toxines).

La température, le pH ou l'*a_w* maîtrisant la croissance des souches du groupe I (protéolytiques type A et B) permettront très vraisemblablement également le contrôle des souches du groupe III (Roberts et Gibson 1979), ces dernières présentant de moindres capacités à se développer à basse température, bas pH ou faible *a_w*. Les souches du groupe II sont dites psychrotrophes (type E) en raison de leurs capacités à se multiplier dès 2,5 °C. L'*Advisory Committee on the Microbiological Safety of Food* (ACMSF) au Royaume-Uni présente des lignes directrices pour la maîtrise de *C. botulinum* non-protéolytique dans les aliments réfrigérés. Elles sont basées sur l'application seule ou en combinaison des facteurs de maîtrise suivants : le maintien des denrées alimentaires à une température inférieure à 3 °C, un pH inférieur à 5,0, une teneur en sel supérieure à 3,5 % ou à une *a_w* inférieure à 0,97. Ces lignes directrices considèrent également les effets combinés de traitements thermiques et d'autres facteurs de maîtrise, établissant solidement, grâce à des tests d'épreuve microbiologique ou des modèles prévisionnels, l'absence de croissance et de production de neurotoxine botulique (ACMSF 2020).

3.1.3. Efficacité des procédés de décontamination chimique

Les données présentées dans cette partie résument celles figurant dans le rapport d'expertise collective « Évaluation des risques relatifs aux mesures de décontamination et de gestion des sous-produits animaux lors des cas de botulisme bovin et aviaire » (Anses 2022b).

La décontamination chimique fait appel à des produits biocides³³. Dans la problématique du botulisme dans l'avifaune sauvage et la protection de la santé publique, elle peut être appliquée pour éliminer ou réduire le danger sur des matériels et surfaces contaminés (matériels de pêche ou de chasse, plans de travail utilisés pour préparer le gibier chassé ou le poisson pêché, etc.). Les formes végétatives de *C. botulinum* sont inactivées par les produits biocides (désinfectants), et la toxine botulique, peu stable lorsqu'elle est exposée à l'air et à la lumière du soleil, peut être assez aisément détruite (Arnon et al. 2001). Toutefois, la persistance de *C. botulinum* dans l'environnement et sur les surfaces souillées est assurée

³² Le concept 12 D fait référence aux exigences d'un traitement thermique de stérilisation des conserves non acides, et correspond à 12 réductions décimales d'une population de spores *Clostridium botulinum* type A (danger bactérien le plus thermorésistant).

³³ Au sens du règlement (UE) N° 528/2012 (dit règlement Biocides), on entend par produit biocide « toute substance ou tout mélange, sous la forme dans laquelle il est livré à l'utilisateur, constitué d'une ou plusieurs substances actives, en contenant ou en générant, qui sont destinées à détruire, repousser ou rendre inoffensifs les organismes nuisibles, à en prévenir l'action ou à les combattre de toute autre manière par une action autre qu'une simple action physique ou mécanique ».

par les spores, qui seront donc la cible privilégiée des procédés de décontamination, imposant le choix de produits ayant une activité sporicide.

Les produits appartenant aux classes des aldéhydes (formaldéhyde, glutaraldéhyde), oxydants (peroxyde d'hydrogène, acide peracétique) et halogénés (produits chlorés comme l'hypochlorite de sodium ou le dioxyde de chlore et produits iodés) sont considérés comme présentant les meilleures activités sporicides (Russell 1990). En conditions expérimentales, plusieurs produits biocides et procédés ont été testés, seul ou en mélange, sur des spores ou des cultures de *C. botulinum* (communication C. Le Maréchal)³⁴. Les résultats montrent que, parmi les désinfectants testés, les produits à base de chlore et de peroxyde d'hydrogène sont les plus efficaces.

La désinfection des surfaces contaminées et matériels en contact avec les denrées alimentaires implique l'utilisation de substances actives approuvées dans le cadre du règlement Biocides³⁵ et revendiquant une activité sporicide (TP4). Concernant la pratique du nettoyage et désinfection chez les particuliers (chasseurs et pêcheurs), les produits les plus communs susceptibles d'être utilisés et préconisés sont à base d'hypochlorite de sodium. Il est à noter que tout objet ou surface contaminé par la toxine botulique peut être décontaminé avec une solution d'eau de Javel à 0,1 % d'hypochlorite de sodium (Arnon et al. 2001).

Le traitement des sites naturels (étangs et leurs berges) est plus problématique en raison de l'impact potentiel des biocides sur les écosystèmes. La chaux, utilisée pour corriger le pH trop acide de certains étangs (Wurts et Masser 2013), est aussi utilisée pour la désinfection des bassins creusés à même la terre (Torgersen et Håstein 1995; OMSA 2024) et des étangs destinés à la production des poissons. Bassins et étangs, doivent être vidés (mise en assec) et curés autant que possible avant d'y répandre la chaux vive (oxyde de calcium) ou hydratée (hydroxyde de calcium) sur le fond humide. L'objectif, pour cet effet désinfectant est d'élever le pH à plus de 12 (Gerard 1974; Torgersen et Håstein 1995; Boyd 2012). La chaux peut être en outre épandue sur les abords humides de l'étang, indépendamment ou en complément du traitement du fond après mise en assec (Gerard 1974). Aussi, la chaux vive est parfois épandue par certains gestionnaires à l'emplacement des cadavres d'oiseaux sur les berges des plans d'eau lors d'épisodes de botulisme. Il s'avère cependant qu'aucune étude n'atteste de l'efficacité de la chaux sur les spores de *C. botulinum* (Anses 2022b). En outre, ce qui est indiqué dans les étangs voués à la pisciculture (Cann et Taylor 1982) et parfois mis en œuvre pour traiter des étangs des parcs et jardins (Gourreau et al. 1986) n'est pas forcément applicable dans les espaces naturels en zones humides. En effet, l'application de la chaux dans l'espace naturel est potentiellement dangereuse sur le plan environnemental du fait de son effet, aux doses indiquées, sur la faune (poissons, invertébrés) et la flore (Boyd 2012). À cet égard, après traitement d'un étang et remise en eau, le rejet direct vers le milieu récepteur de l'eau d'un étang traité dont le pH est supérieur à 8,5 est à proscrire³⁶.

³⁴ Dossier de test et de validation des procédés de décontamination de *C. botulinum* dans le cadre des activités du LNR botulisme aviaire (Code Projet : Projet LNR botulisme aviaire 16-1, révision 01 du 18/04/2016, Code du dossier de validation : DV désinfectants Révision 00 du 19/04/2016). Laboratoire de Ploufragan-Plouzané (Unité HQPAP).

³⁵ Règlement (UE) N° 528/2012 du 22 mai 2012 concernant la mise à disposition sur le marché et l'utilisation des produits biocides, classés en TP (pour type de produit).

³⁶ Désinfection des étangs à la chaux. Aquaculture / Document d'information spécialisé. Agriculture, Pêcheries, Alimentation – Québec.
https://www.mapaq.gouv.qc.ca/fr/Publications/dadd15desinfection_etangs_chaux.pdf

Par ailleurs, dans le cadre du règlement Biocides, la chaux est approuvée en tant que substance active en type de produit 2 (TP2) (désinfectants et produits algicides non destinés à l'application directe sur des êtres humains ou des animaux) et en TP3 (hygiène vétérinaire)³⁷. Cependant à ce jour, aucun produit à base de chaux en TP2 pour la désinfection des étangs après mise en assec n'a été autorisé. Par conséquent son utilisation dans des sites naturels n'est pas couverte actuellement par la réglementation. En outre, il est à noter que l'activité sporicide n'est pas revendiquée par les producteurs de chaux dans les dossiers d'autorisation de mise à disposition sur le marché (AMM) pérennes quel que soit le domaine d'utilisation.

Clostridium botulinum est constitué d'un ensemble de souches bactériennes anaérobies, formant des spores et ayant la capacité de synthétiser de la toxine botulique. Les souches de *Clostridium* productrices de toxines botuliques sont classées aujourd'hui en six groupes (I à VI) en fonction de leurs caractéristiques biochimiques (notamment protéolytiques) et génétiques. Les souches sont aussi classées en fonction du type de toxine produite. Les toxines botuliques se divisent en neuf types (A à H et X) selon leurs propriétés immunologiques.

Les souches de *C. botulinum* du groupe III, associées au botulisme aviaire, produisent des toxines C, D et leurs variants mosaïques C/D et D/C et sont souvent présentes dans des sols riches en matières organiques. Les écosystèmes aquatiques sont des milieux particulièrement favorables au développement des souches du groupe II, comme celles produisant la toxine E. Elles affectent principalement les poissons et les oiseaux aquatiques.

La maîtrise de la contamination des aliments par *C. botulinum* passe par l'action combinée de plusieurs mesures d'hygiène et de facteurs de maîtrise telles que la température, l'activité de l'eau, le pH, ou la teneur en sel. L'inactivation thermique des spores de *C. botulinum* a été bien étudiée pour les types A, B, et E. Les spores du groupe I sont les plus résistantes à la chaleur humide. Leur maîtrise par un procédé de type appertisation (121 °C, 3 min) permet également la maîtrise des spores des souches des autres groupes, en particulier celles du groupe III. Un traitement thermique de 90 °C pendant 10 min, ou des traitements équivalents, permet(tent) une inactivation d'au moins six réductions décimales des spores du groupe II.

La stabilité des toxines (plusieurs jours à plusieurs semaines) dépend de la matrice dans laquelle elles se trouvent, de la température et du pH. Ces toxines sont également sensibles à l'air, à la lumière solaire et aux enzymes protéolytiques. Les toxines des types C et D sont plus résistantes à la chaleur que les toxines de types A, B et E. Si pour ces dernières un traitement de 2 min à 70 °C suffit pour les inactiver, il faut atteindre 90 °C pour obtenir le même résultat en 2 min sur les toxines C et D.

Lors d'un foyer de botulisme en faune sauvage, des biocides comme les désinfectants peuvent être utilisés pour la décontamination chimique du matériel de chasse ou de pêche et des plans de travail pour préparer le gibier chassé ou le poisson pêché. La chaux vive est parfois utilisée pour le traitement du sédiment après mise en assec (vidange suivie d'une période sans eau) de l'étang. Il n'existe cependant aucune étude qui montre son efficacité sur les spores de *C. botulinum*. À noter également que, bien que la chaux soit une substance biocide approuvée dans le cadre du règlement N° 528/2012 en tant que type de produit 2 (TP2)

³⁷ La chaux vive est couramment préconisée pour désinfecter les bâtiments d'élevage (murs et sols) ainsi que les terrains environnants. Elle est aussi préconisée dans certaines maladies pour le traitement des abords et des parcours de volailles (Anses 2017a).

(désinfectants et produits algicides non destinés à l'application directe sur des êtres humains ou des animaux) et type de produit 3 (TP3) (hygiène vétérinaire), son usage dans des sites naturels n'est pas couvert par la réglementation et est potentiellement dangereuse sur le plan environnemental.

3.2. Botulisme humain (rappels)

3.2.1. Différentes formes de botulisme humain

Le botulisme humain est une maladie rare pouvant être létale notamment en cas de prise en charge tardive (de 1 à 10 % de décès selon les formes cliniques) (Anses 2021a).

Cinq types de botulisme sont classiquement décrits, selon le mode de contamination et d'exposition à la toxine : botulisme alimentaire (intoxication), botulisme intestinal (toxi-infection), botulisme par blessure (toxi-infection), botulisme par inhalation et botulisme iatrogène (intoxication). Le botulisme alimentaire et le botulisme intestinal du nourrisson (botulisme infantile) sont les deux formes les plus rencontrées chez les humains en France. Le cas particulier du botulisme iatrogène, lié à un surdosage de toxines lors d'un traitement médical ou cosmétique, ne sera pas abordé dans ce rapport.

3.2.1.1. Botulisme alimentaire (intoxication)

Le botulisme alimentaire est la principale cause de botulisme humain en France. Il résulte d'une intoxication par voie digestive due à la présence de la toxine préformée dans un aliment. Après ingestion, la toxine résiste à l'acidité gastrique et est absorbée principalement par le duodénum et le jéjunum. Elle passe ensuite dans la circulation sanguine.

3.2.1.2. Botulisme infantile (toxi-infection)

Cette toxi-infection survient lorsque des spores de *C. botulinum* sont ingérées. Ensuite, les spores germent, les bactéries se multiplient dans le tractus gastro-intestinal et libèrent la toxine produite *in situ*. Ce botulisme survient chez l'enfant âgé de six jours à 12 mois, mais surtout chez des nourrissons de deux à huit mois. Une faible dose de 10 à 100 spores de *C. botulinum* suffit à induire la colonisation intestinale et la production de toxine. Le microbiote intestinal qui, normalement, a un effet inhibiteur sur la croissance de *C. botulinum* dans le tractus digestif, pourrait ne pas être suffisamment développé ou ne pas jouer son rôle inhibiteur chez les nourrissons de moins d'un an (Popoff 2018).

3.2.1.3. Botulisme infectieux de l'adulte (colonisation intestinale) (toxi-infection)

Cette forme rare et mal comprise suit le même processus pathogénique que le botulisme infantile, mais elle survient chez des adultes présentant un déséquilibre du microbiote (ex. à la suite d'une chirurgie digestive, d'une dysbiose intestinale, d'une immunodépression ou d'une antibiothérapie prolongée).

3.2.1.4. Botulisme par blessure (inoculation)

Le botulisme par blessure est une toxi-infection dont le mécanisme est identique à celui du tétanos. Les spores de *C. botulinum* peuvent contaminer les plaies. En situation d'anaérobiose, la bactérie peut s'y développer et y produire la toxine. Cette forme de botulisme, beaucoup plus rare que le tétanos (Popoff 2018), est, depuis les années 1980, presque exclusivement liée à l'utilisation de drogues injectables. Auparavant, les cas de botulisme de plaie survenaient à la suite de fractures ouvertes, de plaies traumatiques profondes ou de plaies punctiformes contaminées par des corps étrangers. Des blessures profondes sont nécessaires pour créer des conditions d'anaérobiose permettant, après la germination de spores de *C. botulinum*, la production de toxine.

3.2.1.5. Botulisme d'inhalation

Le botulisme par inhalation est très rare (Popoff 2018; Rao et Maslanka 2018). Quelques cas ont été signalés chez des employés de laboratoire qui manipulaient une grande quantité de toxines sans équipement de protection individuel adapté (Holzer 1962), et chez quelques personnes, à la suite de l'utilisation intranasale de cocaïne contaminée (MacDonald et al. 1985; Kudrow et al. 1988), dont des cas en France au début des années 2000 (type B) (Roblot et al. 2006). La présence d'une sinusite à *C. botulinum* ou une absorption directe de la toxine à travers la muqueuse nasale ont été suggérées comme hypothèses étiologiques.

3.2.2. **Signes cliniques et traitement**

Les signes cliniques associés aux différentes formes de botulisme, le diagnostic différentiel ainsi que le traitement sont présentés en détail dans le rapport de l'Anses de juin 2021 (Anses 2021a).

La suspicion clinique et le diagnostic présumé du botulisme humain sont établis sur la base des signes cliniques et des informations épidémiologiques. Le botulisme doit être suspecté chez un patient non fébrile, avec apparition aiguë de signes et symptômes d'une atteinte bilatérale des nerfs crâniens, suivie d'une paralysie flasque bilatérale descendante des muscles volontaires qui peut évoluer vers des troubles respiratoires critiques et même la mort. Chez les nourrissons, le botulisme est suspecté s'il y a apparition aiguë d'une diminution de la succion, de l'apparition d'une ptose palpébrale³⁸, d'inactivité et de constipation. La gravité des signes cliniques dépend de la quantité de toxine botulique absorbée et du type de toxine ; des formes frustes (troubles visuels et/ou troubles digestifs) peuvent survenir. La toxine botulique A est la plus toxique par voie orale.

Le traitement est symptomatique (prévention d'une insuffisance respiratoire) et peut être complété le plus rapidement possible, par l'administration d'une antitoxine heptavalente (Pegram et Stone 2020; Rao et Maslanka 2018).

La majorité des patients, rapidement diagnostiqués et pris en charge, guérissent le plus souvent sans séquelle. Cependant, selon la gravité de l'atteinte, la guérison peut survenir après plusieurs mois. L'amélioration clinique est liée à l'apparition de nouvelles terminaisons nerveuses, c'est pourquoi la rémission complète peut ne survenir qu'un an après l'apparition

³⁸ Déroulement plus ou moins important de la paupière supérieure et impotence totale ou partielle du muscle releveur, qui provoque un abaissement plus ou moins marqué du bord inférieur de la paupière.

des signes et symptômes. Les patients ayant eu besoin d'une ventilation mécanique sont sevrés en moyenne après 58 jours (toxine de type A) et 26 jours (toxine de type B) (Hughes et al. 1981).

Actuellement, avec un diagnostic et des soins de support rapides, la létalité du botulisme est réduite (moins de 1 % pour le botulisme infantile et moins de 10 % pour les autres formes (Pegram et Stone 2020).

3.2.3. Données de surveillance en France

En France, le botulisme humain est une maladie à déclaration obligatoire (MDO). Dans ce cadre, toute suspicion de botulisme humain implique (article L3113-1 du Code de la santé publique) sa déclaration à l'Agence régionale de santé (ARS) et sa confirmation biologique par le Centre national de référence (CNR) des bactéries anaérobies et du botulisme (Institut Pasteur de Paris) (formulaire Cerfa 12219-02). Le bilan ci-après présente la situation du botulisme humain en France à partir des données épidémiologiques de Santé publique France et des investigations biologiques du CNR.

3.2.3.1. Surveillance des cas de botulisme humain en France

Parmi les 130 foyers de botulisme humain recensés sur la période 2008-2022, 102 foyers étaient d'origine alimentaire, 27 foyers correspondaient à du botulisme infantile et un foyer à du botulisme par blessure, observé en 2008 à la suite d'une fracture ouverte de la jambe chez un accidenté de la route. Le botulisme par inhalation est extrêmement rare en France : un unique foyer (deux cas) a été rapporté sur la période 1987-2019 par inhalation de cocaïne.

L'incidence du botulisme est probablement sous-estimée du fait de formes cliniques frustes, comme celles se limitant à des troubles visuels passagers et qui ne font pas l'objet d'examens complémentaires (Mazuet et al. 2018; Roblot et al. 1994).

3.2.3.2. Foyers de botulisme d'origine alimentaire (2008-2022)

Entre 2008 et 2022, 102 foyers de botulisme humain d'origine alimentaire ont été recensés en France. Ils représentent un total de 192 cas (impliquant entre une et six personnes par foyer). Deux à 13 foyers (incidence annuelle moyenne de 6,8 foyers / an) et quatre à 25 cas (incidence annuelle moyenne de 12,8 cas / an) de botulisme humain d'origine alimentaire sont observés annuellement en France.

Les types de toxines botuliques en cause sont les types B (67 foyers et 130 cas), A (20 foyers et 37 cas) puis E (trois foyers et six cas), F (deux foyers et cinq cas). Enfin, pour 10 foyers (14 cas), il n'a pas été possible de déterminer le type toxinique à l'origine des foyers ou des cas (prélèvements biologiques absents, insuffisants ou trop tardifs, aliment non identifié ou indisponible). Faute de restes alimentaires disponibles pour analyse, l'aliment responsable n'a pu être identifié que dans 50 foyers (soit 50 %).

La Figure 2 présente les caractéristiques des foyers de botulisme humain sur la période 2008-2022 pour lesquels la source alimentaire a été identifiée. Parmi les 50 foyers, 33 foyers ont pour origine des préparations familiales et/ou artisanales et 16 des préparations industrielles. Les deux sources alimentaires principales sont le jambon cru (18 foyers) ainsi que les conserves de légumes (15 foyers). D'autres préparations de viande et produits de charcuterie

(pâté, terrine, foie gras, saucisse) (huit foyers) et des aliments composites (type plats cuisinés ; six foyers), ont également été à l'origine de foyers de botulisme.

Les produits avicoles et les poissons ont rarement été identifiés comme sources de botulisme humain en France. La consommation de poulet a été suspectée pour deux foyers de botulisme de type C, en 1972 et 2006 dont un confirmé (Maupas et al. 1976; Martrenchar et al. 2019). Plus récemment en 2015, du pâté de faisan de préparation familiale a été à l'origine d'un foyer de botulisme mais de type A (trois cas). En 2020, du foie gras d'oie mi-cuit de préparation familiale a été à l'origine d'un foyer de botulisme de type B (trois cas). Du poisson fumé et séché (poisson blanc d'origine canadienne et acheté en Finlande) a été à l'origine d'un foyer de botulisme de type E en 2011 (King et al. 2009). Hors période d'étude et plus récemment, en 2023, des préparations de sardines (sardines à l'huile en bocal) de fabrication artisanale distribuées dans un restaurant (mais dont la source initiale de *C. botulinum* n'a pas été déterminée), ont été à l'origine de cas groupés de botulisme de type B (10 cas confirmés dont un décès) (Meurice et al. 2023).

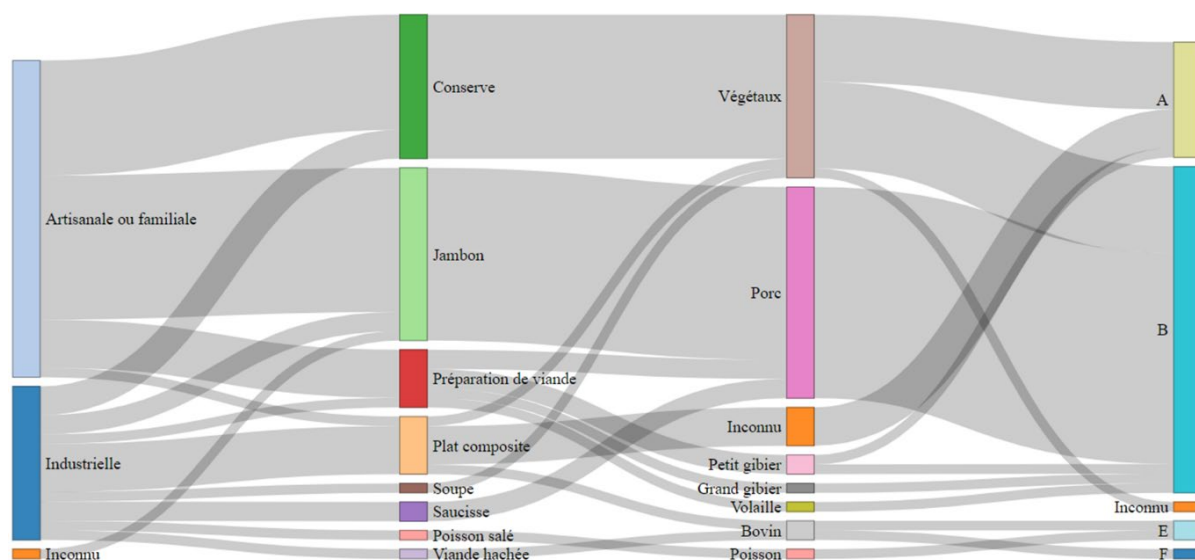


Figure 2. Répartition des foyers de botulisme alimentaire avec identification de la source alimentaire (N = 50) en fonction du type de préparation, de la nature de l'aliment, de l'origine des aliments et du type de toxine botulique (données du CNR Botulisme ; 2008 - 2022).

3.2.4. Caractère zoonotique des types C, D et mosaïques C/D et D/C

Le caractère zoonotique des *C. botulinum* de types C, D et mosaïques C/D et D/C a été évalué par le GT « Groupe socle botulisme », sur la base de l'examen des données épidémiologiques internationales (cas de botulisme humain liés à ces toxines) et des résultats d'essais *in vitro* et *in vivo* sur l'effet des toxines sur l'être humain (Anses 2020b). Les données épidémiologiques disponibles (1950 - 2006) permettent d'établir une relation causale entre l'exposition à la toxine botulique et/ou *C. botulinum* de type C et la survenue de cas de botulisme humain (deux foyers confirmés dont l'un d'origine aviaire rapportés par la littérature internationale). Néanmoins, les sources de contamination n'ont pas été formellement confirmées et une incertitude demeure sur l'origine zoonotique de ces cas. Un seul foyer de

botulisme alimentaire (deux cas ; au Tchad, en 1958) a été identifié dans le monde sur la période étudiée, pour lequel l'exposition à la toxine botulique de type D était suspectée.

Depuis la publication du rapport socle (Anses 2021a), un foyer de botulisme alimentaire de type C (quatre cas) a été identifié au Japon en 2021 (Maeda et al. 2023) mais la toxine C mise en évidence présente une modification de la chaîne lourde permettant la fixation aux récepteurs. Cette modification pourrait éventuellement augmenter la toxicité de ce nouveau type C pour l'être humain. Les cas de botulisme humain C et D sont rarissimes comparativement à ceux de types A, B, E et F. Plusieurs hypothèses sont émises pour expliquer la quasi-absence de cas humains liés aux types C, D et mosaïques C/D, D/C : faible sensibilité de l'hôte, faible exposition humaine, défaut de surveillance. La faible sensibilité de l'être humain aux toxines C, D et mosaïques C/D et D/C est l'hypothèse privilégiée. Dans le cadre des essais *in vivo* réalisés par injection intradermique montrant l'activité de la toxine (particulièrement de la C) (Eleopra et al. 1997), la faible sensibilité correspondrait à une faible absorption intestinale des toxines (Anses 2021a).

Entre 2008 et 2022, le botulisme d'origine alimentaire est la forme très majoritairement observée en France (78 % des foyers sur la période). L'incidence annuelle moyenne du botulisme humain d'origine alimentaire est d'environ sept foyers / an et de 13 cas / an. Les toxines botuliques en cause sont des types A et B, occasionnellement E et F. Aucun foyer / cas de botulisme humain de type C, D ou mosaïques C/D et D/C n'a été recensé pendant cette période. Les aliments les plus souvent impliqués sont des conserves et des produits de fabrication familiale ou artisanale. Les deux principales sources alimentaires sont le jambon cru et les conserves de légumes.

Les oiseaux, produits avicoles ainsi que les poissons ont rarement été impliqués comme sources de botulisme humain en France. Aucun cas ou foyer de botulisme de type E lié à des poissons élevés ou pêchés en France n'a été signalé durant la période 2008 - 2022. Les types toxiques C, D et mosaïques C/D et D/C de *Clostridium botulinum* présentent un caractère zoonotique, mais les cas de botulisme humain liés à ces toxines sont extrêmement rares. La faible sensibilité de l'être humain aux toxines C, D et mosaïques est l'hypothèse privilégiée pour expliquer la quasi-absence de cas liés à ces toxines.

3.3. Botulisme de la faune sauvage

Les trois premières parties de ce chapitre correspondent à une revue bibliographique succincte³⁹, traitant des principaux aspects du botulisme chez les oiseaux sauvages, les poissons et chez certains mammifères éventuellement exposés dans les écosystèmes humides et aquatiques où la maladie s'entretient.

La quatrième partie développe les caractéristiques épidémiologiques du botulisme dans la faune sauvage en prenant notamment en compte les conditions de son développement dans les écosystèmes humides et aquatiques d'eau douce en France hexagonale.

³⁹ Elles résument et complètent celles figurant dans le rapport d'expertise collective « *Clostridium botulinum* : mise à jour des connaissances sur les différentes formes des types C, D, mosaïque C/D et D/C et E » (Anses 2021a).

3.3.1. Principales caractéristiques du botulisme dans l'avifaune sauvage

Le botulisme constitue une cause importante de mortalité de l'avifaune sauvage (Rocke 2006; Rocke et Bollinger 2007). Susceptible de toucher de nombreuses espèces d'oiseaux, cette maladie constitue, du fait des mortalités importantes qu'elle peut provoquer, une menace pour la biodiversité et peut mettre en péril la survie de certaines espèces d'oiseaux menacées.

3.3.1.1. Étiologie et répartition géographique

Décrits sur tous les continents (hors Antarctique), les épisodes botuliques affectant l'avifaune sauvage sont causés par les types C, D ou leurs variants mosaïques C/D et D/C, le type E et, très rarement, le type A⁴⁰.

Les types C, D ou leurs variants mosaïques C/D et D/C, majoritairement responsables de ces épisodes, sont détectés dans au moins une trentaine de pays sur tous les continents, à l'exception de l'Antarctique. Ils affectent en particulier les oiseaux qui vivent dans les milieux aquatiques d'eau douce (lacs, zones humides...), estuariens ou côtiers.

Le type E, étroitement associé aux écosystèmes aquatiques marins et d'eau douce dans les régions septentrionales, est, exception faite des épisodes régulièrement décrits dans la zone des Grands lacs d'Amérique du Nord, moins fréquent chez les oiseaux et affecte principalement des oiseaux piscivores (goélands, pélicans, plongeurs, etc.). Ce toxinotype affecte aussi les poissons (botulisme pisciaire).

Des épisodes de botulisme causés par les toxinotypes C et E sont également décrits chez des oiseaux, notamment des laridés, fréquentant des sites d'enfouissement de déchets organiques (ordures ménagères notamment) (Ortiz et Smith 1994).

Le botulisme dû aux toxinotypes C, D ou mosaïques C/D et D/C chez les oiseaux sauvages a été rapporté chez 264 espèces représentant 39 familles, dont 22 familles d'oiseaux aquatiques (Rocke 2006). Le botulisme E a été identifié seulement chez 31 espèces appartenant à 10 familles (Rocke et Bollinger 2007).

3.3.1.2. Pathogénie et sources de contamination

Dans les conditions naturelles et quel que soit le toxinotype, le botulisme chez les oiseaux est le résultat de l'ingestion, soit de la toxine préformée présente dans l'environnement et/ou les aliments, la maladie résultant d'une intoxication, soit de l'agent pathogène (spores et/ou cellules végétatives), qui après avoir germé et proliféré dans le milieu intestinal, y produit la toxine ; la maladie résultant alors d'une toxi-infection. Le rôle du microbiote et l'impact d'une

⁴⁰ Bien que les oiseaux soient expérimentalement sensibles à la toxine A lorsqu'elle est administrée par voie parentérale ou orale (Rasetti-Escargueil, Lemichez, et Popoff 2019), le botulisme de type A n'est que très occasionnellement diagnostiqué chez ces espèces (Graham et Schwarze 1921 ; Johnson, McAdams, et Whitlock 2010 ; Rogers et al. 2021). Il a été récemment signalé en Californie (États-Unis) sur des goélands d'Audubon *Larus occidentalis* (Rogers et al. 2021). Dans cet épisode observé en octobre 2019 dans le bassin de la rivière Klamath, l'origine de la contamination n'a pas été identifiée, mais du fait du comportement alimentaire opportuniste de ces oiseaux, qui trouvent leur nourriture aussi bien dans les zones marines et intertidales que dans les décharges, c'est cette dernière source qui a été suspectée.

éventuelle dysbiose (déséquilibre du microbiote intestinal) dans le développement d'une toxi-infection dans le cas du botulisme des oiseaux n'ont pas été étudiés à ce jour.

Les parts respectives de la toxi-infection (ingestion de la bactérie et production *in vivo* de la toxine) et de l'intoxication (ingestion de toxines préformées) dans le cycle de la maladie chez les oiseaux sauvages ne sont pas connues au moment de la rédaction du rapport. En fait, les deux phénomènes pourraient coexister lors d'un épisode de botulisme (Skarin, Lindgren, et Jansson 2015) :

- l'hypothèse de la toxi-infection (Roberts et Gibson 1979) a été émise pour expliquer le développement du botulisme en élevage de poulets. Des études (Miyazaki et Sakaguchi 1978; Kurazono, Shimozawa, et Sakaguchi 1987; Hyun et Sakaguchi 1989) de reproduction expérimentale du botulisme aviaire de type C chez le poulet de chair ont permis à ces auteurs de proposer un mécanisme dans lequel les spores de type C ingérées germent au niveau des *cæca* où les formes végétatives produites se multiplient et y produisent la toxine. La multiplication dans les *cæca* a été aussi démontrée chez le faisan (Kurazono, Shimozawa, et Sakaguchi 1987). Chez le poulet, les spores, les cellules végétatives et la toxine excrétées dans les fientes s'accumulent sur le sol et les litières avant d'être ingérées de nouveau par les animaux par le phénomène de la coprophagie⁴¹ qui permet l'amplification de la maladie au sein de l'effectif. Si ce mode d'exposition à la toxine, exclusif ou prédominant en élevage, peut se comprendre chez des oiseaux sauvages maintenus en captivité, il a été considéré comme probablement occasionnel dans les populations d'oiseaux en liberté (Rocke et Bollinger 2007). Le portage asymptomatique digestif de spores chez des oiseaux fréquentant les environnements contaminés, jusqu'à 50 % en période inter-épizootique, (Reed et Rocke 1992; Vidal et al. 2013; Anza et al. 2014), de même que leur détection dans le tube digestif et le foie des oiseaux atteints (Anza et al. 2016) suggèrent cependant que des cas de botulisme découlent d'une toxi-infection dans les conditions naturelles, notamment chez des oiseaux dont le mauvais état de santé pourrait favoriser la multiplication et la production de toxine dans les *cæca* (Rocke et Bollinger 2007). Le portage asymptomatique chez les oiseaux dans des zones sans historique de botulisme n'a pas été mis en évidence (Meloni et al. 2023), celui-ci étant soit inférieur au seuil de détection des méthodes actuellement disponibles, soit absent. En revanche, des oiseaux infectés asymptomatiques issus d'un site contaminé pourraient excréter la bactérie dans les fientes et contaminer des sites sans historique de botulisme.
- dans d'autres cas, le botulisme affectant l'avifaune sauvage pourrait être dû à l'ingestion de toxine préformée présente dans la nourriture. Les sources de toxine incriminées, variables d'une espèce à l'autre, sont les composants d'une chaîne trophique complexe (cf. § 3.3.4.4) mettant probablement en jeu divers intermédiaires tels que végétaux, mollusques, insectes et autres invertébrés, poissons consommés par des oiseaux piscivores, oiseaux eux-mêmes consommés par des oiseaux prédateurs et leurs cadavres consommés par des oiseaux nécrophages, etc. Il faut souligner l'importance, dans le botulisme de type C et mosaïque C/D, du cycle amplificateur cadavres-asticots marqué par le rôle des larves d'insectes nécrophages qui se développent dans les cadavres en décomposition et qui, insensibles à la toxine, la concentrent dans leurs

⁴¹ La coprophagie correspondrait à une consommation volontaire et directe de matière fécale. L'oiseau ici se contamine par l'ingestion de matières souillées donc plutôt de manière indirecte et sans lien avec les caractéristiques du régime alimentaire.

tissus⁴² ; ces larves sont une source de contamination importante pour les oiseaux qui les ingèrent (Reed et Rocke 1992; Wobeser 1997). En revanche, les épisodes de botulisme E chez certains oiseaux piscivores, tels que décrits dans certains Grands Lacs d'Amérique du Nord sont en général associés à des épisodes de mortalité touchant certaines espèces de poissons (notamment les gobies à taches noires *Neogobius melanostomus*) touchés par cette maladie (Getchell et al. 2006; Essian et al. 2016), suggérant que les poissons atteints sont une source de toxine pour les oiseaux qui les consomment (Piazza et al. 2011) (cf. § 3.3.2).

3.3.1.3. Signes cliniques

Le botulisme aviaire cause une paralysie flasque ascendante des muscles squelettiques dont l'issue est liée à la quantité de toxine ingérée ou produite dans les *cæca*. Par exemple, l'expérimentation d'inoculation de Rocke et al. (2000) par ingestion d'asticots (collectés sur des cadavres d'oiseaux lors d'un épisode de botulisme attribué au type C) a pu montrer que la consommation de 0,25-0,5 mg d'asticots, équivalant à des doses de 25 000 à 50 000 MLD 50 permettaient d'observer chez des sarcelles d'hiver des signes cliniques et/ou une mortalité en moins de 24 h. À la plus faible dose administrée (10 000 MLD 50), seuls trois oiseaux sur 10 inoculés ont présenté des signes de paralysie au bout de 2 jours, un seul étant mort au 4^e jour. Comme déjà indiqué, la dose toxique dépend de l'espèce aviaire et du toxinotype auquel l'oiseau a été exposé.

Les signes cliniques peuvent, selon la gravité de la maladie et le stade clinique, correspondre à une simple ataxie limitée aux ailes ou aux pattes affectant le déplacement des oiseaux, jusqu'à une paralysie totale entraînant la mort par arrêt respiratoire.

Quelle que soit l'espèce, la paralysie affecte en premier lieu les muscles des membres (en débutant soit aux pattes, soit aux ailes) avant de s'étendre aux muscles du cou (d'où la dénomination de *limberneck* utilisée en Amérique du Nord pour qualifier le botulisme chez des canards), à la membrane nictitante et aux muscles respiratoires. L'atteinte des ailes rend le vol incoordonné et empêche rapidement l'envol, même si les oiseaux peuvent encore se tenir debout et éventuellement courir. L'atteinte des pattes rend la démarche ataxique. La progression de la paralysie empêche les oiseaux de nager et/ou de se déplacer sur le sol. Certaines postures particulières sont décrites, comme celles de goélands encore alertes se déplaçant sur leurs tarso-métatarses ou se traînant sur le sol en s'aidant de leurs ailes ou de leur bec (Neimanis et al. 2007). Les ailes restent écartées et pendantes. La paralysie des muscles du cou rend les animaux incapables de tenir leur tête hors de l'eau, faisant de la noyade une cause fréquente de mortalité chez certaines espèces. Les oiseaux sont incapables de s'alimenter et paraissent émaciés. L'altération des réflexes de déglutition et du péristaltisme entraîne des régurgitations de salive, de mucus et d'aliments salissant le bec. En phase terminale, les oiseaux restent en décubitus sternal, les ailes tombantes et écartées, et la tête affaissée sur le sol, les yeux fermés ou mi-clos avec une procidence de la membrane nictitante. Ces oiseaux meurent en quelques heures. La mort, due à une insuffisance respiratoire et/ou à une noyade, est souvent observée dans les 48 heures.

Aucune lésion spécifique n'est observée sur les oiseaux morts. Certains présentent des lésions d'entérite, parfois hémorragique. Les cadavres, si la mort est récente, sont

⁴² Les concentrations de toxine C peuvent y atteindre 10⁵ à 10⁶ MLD₅₀ / g, 5 x 10³ à 5 x 10⁴ MLD₅₀ étant suffisantes pour tuer un canard adulte lorsqu'elles sont consommées (Hubálek et Halouzka 1991).

habituellement en bon état corporel, mais souvent sans signe d'alimentation récente. Le botulisme peut néanmoins survenir chez des oiseaux dont les lésions existantes sont le résultat de maladies nutritionnelles, toxiques, parasitaires, bactériennes ou virales pouvant égarer le diagnostic lorsque les animaux sont autopsiés.

Certains oiseaux peu atteints peuvent survivre s'ils arrivent à s'alimenter et s'ils échappent à la prédation ou, pour les oiseaux d'eau, à la noyade.

3.3.1.4. Aspects de la maladie sur le terrain

Le botulisme se traduit généralement par la présence, en nombre anormal, de cadavres d'oiseaux côtoyant des oiseaux moribonds ou présentant des signes paralytiques dans une aire généralement limitée située dans une zone humide, autour d'un plan d'eau douce ou dans une zone littorale. La quantité de cadavres et d'oiseaux atteints est variable, de même que les espèces touchées. Le nombre de cadavres et d'oiseaux cliniquement affectés peut-être limité à quelques individus. La situation la plus caractéristique est néanmoins celle d'une mortalité importante touchant des dizaines, des centaines, voire des milliers d'oiseaux, s'étalant sur plusieurs semaines, en général en saison chaude, plus rarement en hiver et au printemps, affectant généralement plusieurs espèces d'oiseaux locales ou migratrices présentes sur le site. La différence d'amplitude des épisodes peut être reliée à la charge bactérienne présente dans l'environnement, auquel les oiseaux sont exposés.

Quelques exemples peuvent rendre compte de la diversité des situations observées :

- épisode de botulisme C/D décrit dans un parc urbain d'Italie ayant affecté une population de canards colverts et d'oies cendrées *Anser anser* avec un taux de mortalité de 86,8 % (118 oiseaux morts sur 136 atteints) (Badagliacca et al. 2018) ;
- épisode de botulisme attribué au type C associé à des mortalités massives en 1995 dans la zone du lac de Grand-Lieu en France avec plus de 4 000 cadavres ramassés (chiffre estimé pouvant ne représenter que 10 % de la mortalité réelle) correspondant à 36 espèces dont 73 % représentées par des anatidés (23 % par des canards colvert et 20 % par des sarcelles d'hiver) (Le Dréan-Quenec'hdu, Marion, et Popoff 2005).

Certaines espèces habituellement peu affectées peuvent être également atteintes. Ainsi dans l'épisode du lac de Grand-Lieu précédemment cité, la mortalité d'un rapace, le busard des roseaux, a été évaluée à 90 %.

Dans les cas extrêmes, comme cela a été décrit dans la région des Grands Lacs en Amérique du Nord pendant les périodes de migration, le botulisme peut évoluer sous forme de flambées d'aspect épizootique marquées par la mort de milliers ou dizaines de milliers d'oiseaux (Rocke et Bollinger 2007). Des épisodes récurrents peuvent survenir plusieurs années de suite.

Le nombre de morts est, en général, largement sous-estimé et le nombre de cadavres collectés ne permet pas d'apprécier la réelle importance d'un épisode botulique (Ciplef et Wobeser 1993).

L'impact de la maladie varie selon le site, les espèces présentes et d'une année à l'autre lors d'épisodes récurrents. Les épisodes de botulisme E identifiés chez des oiseaux piscivores peuvent révéler une atteinte de l'ichtyofaune (botulisme pisciaire) associée ou non à la mortalité de certaines espèces de poissons (cf. § 3.3.2).

Des cas de botulisme chez des mammifères vivants (mammifères semi-aquatiques en particulier, comme la loutre ou le ragondin) peuvent être découverts sur les sites contaminés (cf. § 3.3.3.1.1).

3.3.1.5. Diagnostic

Bien que l'observation d'un épisode associant mortalités, signes cliniques et historique de botulisme puisse justifier une forte présomption de botulisme, il est nécessaire de valider cette suspicion en la confirmant par des analyses de laboratoire. Au-delà de l'intérêt pour la surveillance, ces analyses, en permettant d'identifier le type toxinique, permettront de définir des mesures adaptées au risque pour les humains.

3.3.1.5.1. *Éléments de suspicion clinique et épidémiologique*

La découverte en nombre anormalement élevé et majoritairement d'oiseaux aquatiques (anatidés en particulier) morts ou malades, présentant des signes de paralysie flasque assez caractéristique, dans une zone humide, sur ou à proximité d'un plan d'eau ou en zone littorale doit entraîner une suspicion de botulisme. La suspicion est renforcée si ces événements surviennent en saison chaude, marquée par une diminution du niveau d'eau, dans des sites connus comme propices au développement de la maladie. Noter cependant que le botulisme peut être observé à d'autres périodes de l'année.

L'atteinte privilégiée d'oiseaux piscivores et des mortalités concomitantes observées chez des poissons peuvent orienter vers une suspicion de botulisme E.

Les causes de mortalité dans l'avifaune sauvage sont néanmoins nombreuses : intoxications (composés chimiques, biotoxines produites par des algues ou des cyanobactéries, etc.), maladies virales (influenza, maladie de Newcastle, flavivirose, etc.), maladies bactériennes, maladies parasitaires (aspergillose, etc.), voire des conditions météorologiques défavorables, une famine, ou encore de manière toutefois plus ponctuelle des traumatismes, des tirs et des dommages causés par les prédateurs (Holms 2019).

Des analyses en laboratoire s'avèrent donc nécessaires pour confirmer la maladie et, notamment, identifier le type toxinique en cause pour en souligner l'intérêt, notamment dans le cadre d'une évaluation de risque en santé publique. À titre d'illustration, sur trois épisodes de botulisme observés en 1996 sur des mouettes rieuses *Chroicocephalus ridibundus* et des goélands argentés *Larus argentatus* en baie de Canche (France), les analyses ont révélé que le botulisme de l'épisode des mois de février et novembre était de type E et celui du mois d'août de type C (Gourreau et al. 1998).

3.3.1.5.2. *Confirmation de la suspicion clinique par des analyses en laboratoire*

La confirmation repose sur la détection de la toxine et/ou celle de *C. botulinum* (spores et/ou formes végétatives). Les méthodes utilisables, déjà décrites dans de précédents rapports de l'Anses seront citées ici. Pour rappel, il n'existe pas de norme pour le diagnostic du botulisme animal, ni de consensus international sur les méthodes et les échantillons à analyser.

Pour la détection de la toxine botulique, trois approches sont possibles : les tests d'inoculation et neutralisation sur souris (tests biologiques historiquement de référence), les tests ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) (Hansbauer et al. 2016) et les tests basés sur l'endopeptidase dont l'Endopep-MS (Tevell Åberg, Karlsson, et Hedeland 2021).

En raison des difficultés d'isolement sur milieu sélectif (Le Gratiot et al. 2020), la recherche de *C. botulinum* se fait par enrichissement de l'échantillon en bouillon puis détection de la présence de la bactérie par une méthode de PCR ciblée sur la détection du gène codant les différentes toxines. La toxine botulique produite par la bactérie durant la phase d'enrichissement peut être aussi recherchée (détection) par les méthodes évoquées précédemment (Le Maréchal et al. 2016).

Une méthode de détection des séquences d'acides nucléiques (ARN et ADN) codant les toxines de types C, D, mosaïques C/D et D/C directement après une élution de l'échantillon dans du PBS (*phosphate-buffered saline*) sans étape préalable d'enrichissement a été, en outre, développée très récemment (Masters et Palmer 2021).

Les méthodes majoritairement utilisées dans les laboratoires et les publications pour le diagnostic et la surveillance chez des oiseaux sauvages sont les tests d'inoculation et neutralisation sur souris et la détection des gènes codant les différentes toxines dans le milieu d'enrichissement après culture de l'échantillon analysé. Cette approche est considérée depuis longtemps comme l'approche de référence pour le diagnostic du botulisme. Bien qu'elle soit longue, coûteuse et pose des problèmes éthiques, elle est toujours utilisée par certains laboratoires. Le test de séroneutralisation sur souris permet de rechercher la toxine dans des échantillons de sang (sérum), de différents organes (foie, rate) et de contenu intestinal, l'idéal étant de prélever ces échantillons sur des oiseaux malades capturés, plutôt que sur des oiseaux morts chez lesquels en cas de résultat positif, il n'est pas possible d'établir si la toxine détectée a été produite avant la mort de l'animal et en est la cause ou si elle a été produite post-mortem du fait de la présence de spores dans le tractus digestif des animaux et des conditions favorables à la croissance de la bactérie. Il est aussi applicable pour rechercher la toxine dans des larves et pupes de mouches éventuellement découvertes dans leur tube digestif ou collectés sur des cadavres. Bien que très spécifique, cette méthode ne permet pas cependant de différencier les types mosaïques C/D ou D/C des types C et D. La toxine, une fois fixée sur sa cible, n'est plus détectable dans les tissus ou n'est présente qu'en limite ou en dessous du seuil de détection. Cela peut entraîner des faux négatifs liés au prélèvement si celui-ci, trop tardif, est réalisé lorsque la toxine est fixée. Le taux de détection de la toxine chez des oiseaux vivants présentant des signes cliniques de botulisme est très variable selon les études, de très faible (moins de 5 %) jusqu'à 77 % (Masters et Palmer 2021). Un résultat négatif individuel lors de la recherche de toxine, notamment dans le sérum, n'exclut donc pas le botulisme et il est nécessaire de tester plusieurs sujets atteints (Martinez et Wobeser 1999; Silva et al. 2017). Lors d'épisodes de mortalité massive, la recherche de toxine (qui atteint des concentrations élevées) dans des larves et pupes de mouches collectées sur des cadavres peut apporter une aide précieuse au diagnostic.

La détection de la bactérie dans différents tissus et dans le contenu digestif des oiseaux, applicable aussi à la détection de la bactérie dans des prélèvements environnementaux, après mise en culture de l'échantillon analysé et détection par PCR en temps réel du gène codant les différentes toxines, est actuellement le test de diagnostic le plus utilisé en France. Très spécifique et très sensible, cette méthode montre, dans le cas, par exemple, d'un test optimisé par Le Maréchal et al. (2017) pour rechercher la bactérie dans des échantillons de foie, une limite de détection de 5 spores/ g pour les types C, D et mosaïques C/D et D/C et 250 spores/g pour le type E dans la matrice foie d'origine aviaire. Le faible taux de détection de *C. botulinum* par cette approche PCR à partir d'échantillons prélevés sur des animaux asymptomatiques (Dahlenborg, Borch, et Rådström 2003; Fohler et al. 2016) par rapport à la forte prévalence détectée chez des sujets présentant des signes de paralysie (Bano et al. 2017) fait de la PCR

un outil de diagnostic précieux, bien qu'il cible la bactérie et non la toxine. En conséquence, la PCR représente l'approche la plus adéquate pour obtenir un diagnostic rapide et elle est, dans le cas d'un tableau clinique très évocateur, considérée suffisante pour confirmer ce diagnostic avec une forte probabilité. En outre, la PCR est actuellement la méthode la plus rapide pour identifier le type toxinique impliqué dans le foyer, ce qui constitue un élément essentiel pour pouvoir évaluer et gérer le risque pour les humains éventuellement exposés.

Pour le diagnostic, la recommandation actuelle en France est de collecter au moins quatre oiseaux malades vivants à des stades d'évolution variés qui seront rapidement euthanasiés ou à défaut des oiseaux récemment morts. Les prélèvements de tissus, en particulier le foie dans son entier (prise d'essai de 25 g par oiseau) et de contenu intestinal seront, si possible, conservés à – 18 °C et acheminés au laboratoire référent. Des prélèvements de sang pour la recherche de toxine à partir du sérum peuvent être effectués par ponction veineuse. Il est plutôt recommandé de réaliser les prélèvements de sang sur des animaux, présentant les premiers symptômes afin que la toxine soit circulante et pas encore fixée au niveau des neurones lorsque cela est possible.

Dans les faits, les échantillons collectés, dans le cadre de suspicion de botulisme en faune sauvage, le sont très souvent sur des oiseaux trouvés morts.

3.3.1.6. Réhabilitation, traitement et prévention médicale

Environ 10 à 20 % des oiseaux collectés durant un épisode botulique sont vivants, avec des degrés variables de paralysie. Dans la plupart des foyers, ces oiseaux sont euthanasiés, bien que 75 à 90 % puissent se rétablir, s'ils sont modérément atteints et soignés (Locke et Friend 1987). Les oiseaux qui souffrent de botulisme peuvent facilement être capturés lorsqu'ils perdent la capacité de plonger pour échapper à la poursuite.

Dans des conditions favorables, la fourniture d'eau douce, d'ombre et une protection contre les prédateurs peut permettre aux oiseaux exposés à de faibles quantités de toxine de récupérer sans traitement⁴³. Recueillis dans un centre de soins de la faune sauvage, les oiseaux malades les plus atteints peuvent bénéficier d'un traitement de soutien, consistant en une antibiothérapie, un apport vitaminique, une réhydratation intraveineuse et une alimentation par sonde durant au moins 5 jours (Anza et al. 2016). Ce traitement symptomatique peut être complété ou non, d'une injection d'antitoxine (Wobeser, Marsden, et MacFarlane 1987; Silva et al. 2018⁴⁴) administrée précocement (rappel : elle ne neutralise que la toxine circulante et n'a aucune action sur la toxine fixée et les paralysies). Elle est indiquée surtout dans le cas d'espèces protégées en voie de disparition.

Le succès du traitement dépend de la dose de toxine ingérée, de l'espèce et de l'état d'avancement de la maladie chez les oiseaux recueillis. Les oiseaux retrouvés encore vivants mais incapables de voler avec une paralysie flasque des ailes et du cou, meurent souvent en quelques heures. Le traitement des oiseaux de rivage, des goélands, des foulques d'Amérique et des grèbes est généralement infructueux (Le Maréchal, Woudstra, et Fach 2016).

⁴³ <http://apha.defra.gov.uk/documents/surveillance/diseases/avian-botulism.pdf>
<https://birdcareaotearoa.org.nz/botulism/>
<https://www.learnbirdcare.com/post/how-to-care-for-birds-with-botulism>

⁴⁴ Cet article brésilien évoque des traitements avec une antitoxine commerciale CD.

Peu de données sont disponibles sur la persistance du portage chez les oiseaux testés, notamment lorsqu'ils ont reçu un traitement antibiotique. Anza et al. (2016) décrivent néanmoins une décroissance de l'excrétion fécale de *C. botulinum* de type C/D chez 32 oiseaux sauvages recueillis et soignés dans des centres de soins (dans un environnement considéré comme non contaminé) : excrétion détectée chez 30 % d'entre eux à l'arrivée et chez aucun, sept jours plus tard, par l'analyse d'écouvillons cloacaux.

Les oiseaux qui guérissent n'acquièrent pas d'immunité protectrice (Haagsma 1987, cité par Martinez et Wobeser 1999) et ne sont pas résistants en cas de nouvelle exposition lorsqu'ils sont relâchés. D'où la proposition de certains spécialistes, de vacciner les oiseaux avant de les relâcher, l'antitoxine⁴⁵ qui leur est éventuellement administrée n'interférant pas avec l'acquisition de l'immunité conférée par ce vaccin (anatoxine)⁴⁶ (Martinez et Wobeser 1999). En effet, la quantité de toxine circulante chez les oiseaux atteints est faible et ne permet pas le développement d'une immunité. En revanche, la vaccination implique l'injection d'une quantité adaptée d'anatoxine associé à un adjuvant permettant l'acquisition d'une immunité protectrice.

La vaccination contre le botulisme de type C a été utilisée avec succès dans des élevages, de poulets mais également chez des canards colverts et des faisans (Boroff et Reilly 1959; Dohms, Allen, et Cloud 1982; Kurazono et al. 1985; Martinez et Wobeser 1999; Rocke et al. 2000; Anniballi et al. 2013). Les vaccins disponibles sont tous préparés à base d'anatoxines. Des vaccins recombinants sont également en développement et montrent une bonne efficacité sur des canards (Arimitsu et al. 2004). En pratique, deux injections de vaccins à 14 jours d'intervalle doivent être utilisées. Dans les essais I et II de Martinez et Wobeser (1999) réalisés en conditions expérimentales, la morbidité et la mortalité sont réduites chez des canards couverts *Anas platyrhynchos* vaccinés (une seule injection) et challengés 10 jours après. La protection dans ces essais persiste 90 jours. Une vaccination peut être réalisée en phase d'élevage d'oiseaux destinés à être lâchés pour la chasse et chez les appelants.

Le botulisme est une cause importante de mortalité pour l'avifaune sauvage, pouvant impacter la survie de certaines espèces menacées. Les épisodes botuliques affectant l'avifaune sauvage sont causés par les types C, D ou leurs variants mosaïques C/D et D/C, le type E et, très rarement, le type A. Les types C, D ou leurs variants sont détectés dans au moins une trentaine de pays sur tous les continents, et en particulier chez les oiseaux vivants dans les milieux aquatiques d'eau douce, estuariens ou côtiers. Les types E sont moins fréquents chez les oiseaux en Europe mais en revanche affectent plus particulièrement les poissons, même si les épisodes de botulisme pisciaire sont rarement rapportés.

Le botulisme chez les oiseaux est le résultat de l'ingestion, soit de toxines préformées présentes dans l'environnement et/ou les aliments (intoxication), soit de bactéries (sous forme de spores et/ou de cellules végétatives), qui après avoir germé et proliféré dans le milieu intestinal, y produisent la toxine (toxi-infection). Les deux phénomènes pourraient coexister lors d'un épisode de botulisme.

⁴⁵ Obtenues par immunisation d'équidés et destinées au traitement du botulisme humain, les antitoxines éventuellement disponibles sont trivalentes (A, B, E) ou heptavalentes (A, B, C, D, E, F, G).

⁴⁶ Une anatoxine est une toxine (substance provenant d'une bactérie) qui a été traitée par la chaleur et le formol et a ainsi perdu son pouvoir toxique. Cependant, elle a conservé ses propriétés antigéniques provoquant la formation de petites quantités d'antitoxine et la production de cellules capables de reconnaître la toxine (Larousse Médical, consulté en mars 2025).

Le botulisme aviaire provoque une paralysie flasque ascendante des muscles squelettiques chez les animaux, liée à l'effet de la toxine ingérée ou produite dans les *cæca*. Les signes cliniques peuvent aller d'une simple ataxie limitée aux ailes ou aux pattes affectant le mouvement jusqu'à une paralysie totale. La paralysie rend les oiseaux incapables de se déplacer et de s'alimenter, conduisant à une insuffisance respiratoire et/ou à une noyade. Aucune lésion spécifique n'est observée chez les oiseaux morts, mais certains peuvent présenter des lésions d'entérite, parfois hémorragique. Les oiseaux les moins gravement atteints peuvent surmonter la maladie s'ils continuent de s'alimenter et échappent à la prédation ou à la noyade.

Le traitement des individus atteints de botulisme pouvant être capturés associe antibiothérapie, supplémentation en vitamines, réhydratation intraveineuse et alimentation par sonde pendant au moins cinq jours (durée du traitement fonction de la dose de toxine ingérée, de l'espèce et de l'état d'avancement de la maladie chez les oiseaux). Il semble que la vaccination de ces oiseaux avant leur remise en milieu naturel contribuerait à l'acquisition d'une immunité protectrice. Des vaccins à base d'anatoxines ont été utilisés avec succès chez diverses espèces, notamment les oiseaux de proie, les canards et les faisans.

La découverte d'un grand nombre d'oiseaux aquatiques morts ou malades, en particulier d'anatidés, dans des zones humides, à proximité de plans d'eau ou de zones côtières peut conduire à suspecter la présence de botulisme. Cette suspicion est renforcée lorsque ces événements surviennent pendant des étés chauds avec des faibles niveaux d'eau dans des sites connus pour le développement de la maladie. Il est toutefois nécessaire de valider une suspicion en la confirmant par des analyses de laboratoire. Au-delà de l'intérêt pour la surveillance, ces analyses, en identifiant le type toxinique, peuvent permettre de définir des mesures adaptées au risque pour les humains.

3.3.2. Principales caractéristiques du botulisme chez les espèces piscicoles

Le botulisme chez les poissons, caractérisé par une atteinte neuroparalytique souvent mortelle, est causé presque exclusivement par *C. botulinum* de type E.

Régulièrement décrit dans certains pays durant les années 1960 - 2000 chez des poissons d'élevage, truites et saumons essentiellement, et parfois responsable de pertes importantes dues aux mortalités (jusqu'à 79 % dans certains établissements), le botulisme en aquaculture est devenu rare, du fait notamment de l'évolution des pratiques d'élevage et de gestion sanitaire. Il faut souligner cependant que les signalements de foyers de botulisme chez des poissons dans les établissements piscicoles ont toujours été exceptionnels en France.

En dehors des épisodes de botulisme E, décrits chez des poissons d'eau douce dans les Grands Lacs d'Amérique du Nord (cf. § 3.3.2.1), les observations portant sur des espèces sauvages sont limitées, en particulier chez les espèces marines où elles sont présentées comme anecdotiques (Uzal, Henderson, et Asin 2024).

En fait, les poissons jouent un rôle central dans le cycle de transmission du botulisme de type E dans les environnements contaminés (marins ou d'eau douce) en intervenant notamment en tant que source de contamination dans la survenue du botulisme dans l'avifaune sauvage, en particulier des oiseaux piscivores (cf. § 3.3.1). Ils occupent également une place prépondérante en tant que source du botulisme alimentaire humain dû au toxinotype E, qu'ils soient malades ou, plus fréquemment, simplement porteurs digestifs.

3.3.2.1. Étiologie et répartition géographique

Bien que les poissons s'avèrent sensibles aux toxines botuliques A, B, C, D, E et F lorsqu'elles sont inoculées expérimentalement par voie parentérale, le botulisme chez ces animaux est causé, dans la quasi-totalité des cas, par *C. botulinum* de type E (Skulberg et Grande 1967; Haagsma 1975; Lalitha et Gopakumar 2001; Eklund et al. 2004; Chatla et al. 2016). Cela s'explique par la sensibilité particulière des poissons, avec de grandes disparités en fonction des espèces (Haagsma 1975), à la neurotoxine de type E. La dose létale chez le saumon argenté *Oncorhynchus kisutch* juvénile de 12 – 15 g dans une eau à 15 °C est ainsi estimée à 0,5 MLD après administration intrapéritonéale et 90 MLD après administration digestive (Eklund et al. 2004). Les observations relatives à l'intervention d'autres types toxiques, par exemple le type C (auquel les poissons s'avèrent moins sensibles qu'au type E) chez le tilapia *Oreochromis mossambicus* dans un lac salé (*Salton sea*) de Californie (États-Unis) (Nol et al. 2004), sont exceptionnelles.

Le botulisme pisciaire (de type E) est observé dans les zones de répartition du type toxique E, c'est-à-dire les régions les plus septentrionales de l'hémisphère nord (Amérique du Nord, nord de l'Europe, de l'Asie et du Japon), dans des environnements marins (zones côtières) et d'eau douce (Grands Lacs d'Amérique du Nord par exemple).

Les principales références sur la maladie, telle que constatée chez des poissons d'élevage, portent sur les truites et saumons (Cann et Taylor 1982; Eklund et al. 1982; 1984; 2004), ainsi que chez des poissons-chats *Ictalurus punctatus* élevés ou vivant dans le delta du Mississippi (Gaunt, Kalb, et Barr 2007; Khoo et al. 2011; Beecham et al. 2014). S'y ajoutent les références à l'atteinte de certains poissons sauvages des Grands Lacs d'Amérique du Nord, en particulier le gobie à taches noires *Neogobius melanostomus* (Getchell et al. 2006; Essian et al. 2016).

3.3.2.2. Pathogenèse et sources de contamination

Comme chez les mammifères et les oiseaux, le botulisme chez les poissons est dû à un blocage de la libération d'acétylcholine aux jonctions neuromusculaires conduisant à la paralysie des muscles squelettiques (incluant ceux contrôlant les nageoires) (Eklund et al. 2004; Beecham et al. 2014). Le temps d'évolution vers la mort et le taux de létalité sont dose-dépendants, le seuil critique pour l'apparition des signes cliniques variant beaucoup selon la sensibilité propre à l'espèce (Yule, LePage, et al. 2006). La sensibilité des poissons lors de contamination orale est, en outre, réduite lorsque la température de l'eau diminue (Eklund et al. 2004).

Le développement du botulisme chez des poissons résulte, comme pour les autres espèces animales, ou bien de l'ingestion de toxine présente dans l'environnement ou dans les aliments (intoxication), ou bien du développement d'une toxi-infection d'origine digestive chez les poissons. Dans cette dernière hypothèse, les conditions permettant aux spores qui transitent dans le tube digestif de germer dans l'intestin et aux formes végétatives d'y proliférer et d'y produire la toxine ne sont pas connues. Il est vraisemblable que ces deux voies de contamination coexistent dans le développement de la maladie.

Un point important déjà décrit depuis longtemps (Hobbs 1976) est le portage digestif de spores de *C. botulinum* de type E dans l'intestin des poissons vivants dans les écosystèmes contaminés. C'est ce que montrent les investigations, tant réalisées dans les milieux marins que continentaux (eaux douces). Les principales données en milieu marin émanent

d'investigations menées dans les années 1980-2000 dans le nord de l'Europe. C'est notamment le cas en mer Baltique où jusqu'à 100 % des échantillons de sédiments prélevés en certains sites sur les côtes de Finlande révélaient la présence de spores de *C. botulinum* de type E, avec des concentrations moyennes (obtenues avec la technique du nombre le plus probable) de 410 (30 à 11 000) spores par kg (Hielm, Björkroth, et al. 1998). Parallèlement, de fortes prévalences de portage (cutané et intestinal) étaient constatées chez les poissons qui y étaient pêchés (Hyytiä, Hielm, et Korkeala 1998), notamment des espèces comme les harengs *Clupea harengus* qui peuvent aisément se contaminer à partir des sédiments en consommant notamment des mollusques, crustacés et larves diverses (Hielm, Björkroth, et al. 1998). Ces poissons sont secondairement une source de contamination pour les espèces prédatrices comme les truites et saumons. La présence de *C. botulinum* de type E dans les sédiments et les eaux ainsi que la consommation de poissons expliquent aussi la contamination des mammifères marins, tels que des pinnipèdes ou des cétacés, qui peuvent héberger des spores dans leur tube digestif et sur leur peau (Leclair et al. 2013).

De nombreuses études, effectuées principalement dans l'écosystème particulier des Grands Lacs d'Amérique du Nord (Bott et al. 1966; Monheimer 1968; Chun et al. 2015; 2013; Hannett et al. 2011; Pérez-Fuentetaja et al. 2006; Wijesinghe et al. 2015; Yule, Austin, et al. 2006; Yule, Barker, et al. 2006; Yule, LePage, et al. 2006; Zulkifly et al. 2012; Getchell et al. 2006; Essian et al. 2016), montrent que la principale source de spores de *C. botulinum* de type E dans ces milieux est constituée par les sédiments, dans lesquels la prévalence des spores peut être particulièrement élevée, jusqu'à 88 % sur les bords du lac Érié dans l'étude de (Hannett et al. 2011). En outre, la présence de la bactérie dans les sédiments est associée dans ces écosystèmes :

- à la contamination par cette bactérie de différents organismes benthiques (vers aquatiques, petits crustacés, moules et larves aquatiques d'insectes), certains de ces invertébrés pouvant héberger parfois des quantités de spores plus élevées par unité de poids que les sédiments dans lesquels ils évoluent (Pérez-Fuentetaja et al. 2011) ;
- à sa présence à la surface de certaines algues (notamment *Cladophora* spp.) (Chun et al. 2013; Wijesinghe et al. 2015) et microalgues associées (Zulkifly et al. 2012).

La prévalence du portage de *C. botulinum* type E (tractus digestif, peau, ouïes) chez les poissons pêchés dans ces lacs est en général en relation avec le taux de contamination des sédiments, et leur contamination se produit au contact des sédiments et eaux contaminées véhiculant des spores, lors de l'ingestion de débris végétaux, algues et planctons contaminés accumulés à l'interface sédiments/eaux ou en suspension dans l'eau, et/ou lors de l'ingestion d'organismes benthiques (Dolman 1957; Hannett et al. 2011; Chun et al. 2013; Wijesinghe et al. 2015). L'ingestion de nourriture contaminée explique la présence de la bactérie dans le contenu digestif des poissons (sains ou malades), avec des taux de positivité variant, dans l'étude de Bott et al. (1966) de 1 à 9 %, et atteignant 57 % en certains sites du lac Michigan (Bott et al. 1968). *C. botulinum* type E a été, en outre, mis en évidence dans le contenu digestif, le foie, les reins et la rate de poissons moribonds collectés dans les Grands Lacs, ainsi que la toxine E dans le contenu digestif (Getchell et al. 2006).

Des chaînes de transmission entre les sédiments, des mollusques bivalves benthiques de la famille des *Dreissenidae*, des gobies *Neogobius melanostomus*, poissons de fond se nourrissant notamment de ces mollusques, et des cormorans américains *Nannopterum auritus* ont été potentiellement incriminées dans les Grands Lacs d'Amérique du Nord (Essian et al.

2016). Dans ces lacs, les gobies sont en effet des proies prisées et retrouvées dans le tube digestif des oiseaux piscivores affectés (Hannett et al. 2011).

Les poissons malades ou moribonds atteints de botulisme sont aussi des proies plus faciles pour les poissons prédateurs (comme l'achigan à petite bouche, *Micropterus dolomieu*, et autres poissons piscivores), secondairement touchés par la maladie (Getchell et al. 2006).

Les mécanismes de contamination et de développement du botulisme dans des bassins d'élevage, tel que décrits dans les années 1960 - 2000 chez des espèces carnivores comme la truite et le saumon relèvent de mécanismes différents. L'introduction de *C. botulinum* E dans ces élevages étaient attribuée à l'environnement, aux poissons eux-mêmes (issus notamment d'écloseries contaminées et hébergeant la bactérie dans leur tube digestif), aux aliments à bases de farines de poissons insuffisamment chauffées et/ou mal conservées et aux oiseaux. Le fond des bassins, souvent en terre, se prêtait mal aux opérations de désinfection et favorisait la persistance des spores. Les sédiments dans les bassins d'élevage, constitués notamment des excréments des poissons et des aliments non consommés, représentent un substrat favorable à la germination des spores et à la croissance de *C. botulinum*. Mais ce sont les poissons morts en décomposition, accumulés au fond des bassins, avec des concentrations de toxine atteignant parfois 10 000 à 20 000 MLD / g, qui ont été considérés comme la principale source de toxine E (Cann et Taylor 1982; Eklund et al. 1984). Un cycle amplificateur (Eklund et al. 1984) peut ainsi s'instaurer entre les cadavres présents au fond des bassins et les truites ou saumons qui, conséquemment au cannibalisme, ingèrent bactéries et toxine. Des quantités de bactéries se situant entre 75 et 110 000 NPP (nombre le plus probable) par gramme d'intestin, et des quantités de toxine pouvant atteindre plus de 200 MLD par gramme ont été retrouvées chez les poissons malades (Eklund et al. 1984).

3.3.2.3. Signes cliniques

La maladie passe généralement inaperçue dans le milieu naturel et la description des signes cliniques résulte essentiellement des observations faites à la suite d'inoculations expérimentales ou dans des élevages atteints (Haagsma 1975; Cann et Taylor 1982; Eklund et al. 1982; 1984; Lalitha et Gopakumar 2001; Eklund et al. 2004; Yule, LePage, et al. 2006; Yule, Barker, et al. 2006; Yule, Austin, et al. 2006).

Les signes cliniques sont principalement ceux d'une paralysie musculaire progressive se manifestant par une nage désordonnée, des troubles de l'équilibre postural (nage sur le dos par exemple), la perte des mouvements de la queue, des troubles respiratoires (perte des mouvements operculaires et abduction des opercules), une léthargie et la mort qui survient souvent rapidement.

Une entité clinique particulière, dénommée toxicose viscérale⁴⁷ (*Catfish visceral toxicosis* ou CVT), est aussi décrite aux États-Unis chez le poisson-chat. La mortalité en élevage est souvent importante, jusqu'à 79 % dans des élevages de truites et de saumons (Gaunt, Kalb, et Barr 2007; Khoo et al. 2011; Chatla et al. 2012; 2014; Beecham et al. 2014).

Certaines espèces, comme les gobies, montrent une hyperpigmentation cutanée. Des lésions sont parfois mises en évidence chez les poissons, incluant, notamment dans la CVT, invagination et blanchiment des intestins, ascite, congestion de la rate et parfois exophtalmie

⁴⁷ Cette forme se traduit par une perte du contrôle musculaire des branchies (affectant la respiration) et une paralysie du muscles impliqués dans la nage.

(Gaunt, Kalb, et Barr 2007; Khoo et al. 2011). Il est habituel, chez certaines espèces comme le saumon, de trouver, accumulée dans la partie distale de l'intestin, une substance fécale visqueuse et jaune orangée suggérant un désordre digestif (Eklund et al. 1982).

3.3.2.4. Aspects de la maladie sur le terrain

Lors des foyers de botulisme survenant dans les fermes aquacoles, les pertes peuvent être importantes, avec des taux de mortalités atteignant 79 % dans certaines écloséries de truites et de saumons, comme cela a été signalé, entre autres, lors d'épizooties décrites aux États-Unis entre 1979 et 1983 (Eklund et al. 1984).

En revanche, la maladie survenant chez les poissons sauvages, à moins de causer une mortalité très importante (cadavres flottants ou échoués sur les berges), n'est généralement perceptible qu'au travers du développement d'épizooties de botulisme chez des oiseaux piscivores ou charognards (Nol et al. 2004; Yule, Barker, et al. 2006), parfois concomitantes avec le signalement de cas humains de botulisme pisciaire (Monheimer 1968).

3.3.2.5. Diagnostic

Les troubles de l'équilibre et les difficultés de la nage, associés à une mortalité importante observés dans le botulisme chez le poisson, ne sont pas spécifiques du botulisme et la suspicion implique l'élimination préalable de maladies (virales en particulier) ou intoxications plus courantes. Il convient de signaler que si des températures trop élevées, des pollutions organiques, une eutrophisation, une déplétion en oxygène dissous et une surpopulation pisciaire peuvent provoquer des mortalités, les mêmes causes peuvent être aussi responsables de l'émergence d'un épisode de botulisme chez le poisson.

Le diagnostic de certitude implique, chez les poissons malades ou moribonds, la démonstration de la présence de toxine dans le sang et/ou le tractus digestif. La caractérisation concomitante de *C. botulinum* (spores et formes végétatives) dans le tube digestif des poissons corrobore le diagnostic mais demeure à elle seule insuffisante en raison du portage décrit chez des sujets sains (Cann et Taylor 1982).

Le diagnostic est cependant souvent mis en défaut par l'absence de neurotoxine libre dans les tissus (Yule, LePage, et al. 2006; Getchell et al. 2006) ou, lorsque cette méthode de diagnostic est utilisée, par une sensibilité insuffisante des tests sur souris par rapport aux concentrations présentes et éventuellement actives chez certains poissons. Chez le poisson-chat atteint de CVT, par exemple, la toxine détectable dans le sérum est souvent inférieure à 0,5 MLD₅₀ / mL (Chatla et al. 2014; Gaunt, Kalb, et Barr 2007). Le recours au poisson-zèbre (*Danio rerio*), plus sensible à la toxine E a été ainsi proposé comme alternative à la souris (Chatla et al. 2014; 2016), ou encore celle de rechercher la toxine par la méthode Endopep - MS (Gaunt, Kalb, et Barr 2007).

3.3.2.6. Prévention et lutte

Les données disponibles sur la prévention et la lutte contre le botulisme chez les poissons correspondent essentiellement aux mesures préconisées dans les élevages de truites et de saumons touchés par cette maladie dans les années 1960 - 2000 en Amérique du Nord et en Europe septentrionale.

La prévention dans ces élevages reposait sur des mesures de biosécurité (protection contre les contaminations environnementales, approvisionnement en alevins dans des éclosiers indemnes, alimentation sécurisée), l'entretien des sites d'élevage (assecs ou vidange des bassins, curage régulier pour éliminer les sédiments) et l'élimination régulière des poissons morts. Les mesures en cas d'éclosion de la maladie comprenaient la suppression de tous mouvements de poissons vers l'extérieur de l'élevage, le transfert des poissons dans des bassins préalablement nettoyés après élimination des poissons malades et morts, ainsi que la vidange, le curage et le chaulage des bassins touchés (Cann et Taylor 1982 ; Eklund et al. 1984).

Les progrès en matière de biosécurité, axés notamment sur la qualité de l'eau et la qualité de la nourriture ont contribué à rendre très rares les signalements de botulisme dans les établissements d'aquaculture.

Le botulisme chez les poissons, principalement dû à la toxine botulique de type E affecte aussi bien les écosystèmes aquatiques que les systèmes d'aquaculture. La maladie se traduit par une paralysie progressive des poissons, souvent fatale. Elle est généralement déclenchée par l'ingestion de toxines présentes dans les sédiments ou accumulées dans les proies infectées. Le diagnostic repose principalement sur l'identification des toxines botuliques dans les tissus ou les fluides des poissons atteints. En aquaculture, la mise en œuvre de mesures strictes de biosécurité et d'une gestion rigoureuse ont permis de réduire l'incidence de cette maladie, mais le botulisme reste un défi pour les écosystèmes naturels.

3.3.3. Botulisme chez les mammifères

Seules les espèces de mammifères, vivant ou fréquentant les zones humides, et donc éventuellement exposés lors d'épisodes de botulisme déclarés sont prises en compte ici. Il s'agit principalement d'espèces sauvages, mais aussi de quelques espèces domestiques.

3.3.3.1. Mammifères sauvages

Diverses espèces de mammifères sauvages vivent ou fréquentent les zones humides (cf. § 2.1). Les espèces signalées comme atteintes de botulisme l'ont été sur la base de résultats d'analyses de laboratoire principalement pratiquées à partir d'animaux trouvés morts. Mais, à l'exception des circonstances de leur découverte, il n'existe, pour la plupart d'entre elles, que de rares données sur leur sensibilité aux différentes BoNTs et sur les modalités de leur contamination.

3.3.3.1.1. *Mammifères sauvages semi-aquatiques*⁴⁸

Des cas de contamination de mammifères semi-aquatiques ont été décrits chez des ragondins. Ils résultent essentiellement d'investigations effectuées lors d'épisodes de

⁴⁸ Mammifères terrestres utilisant les milieux aquatiques pour au moins une partie de leurs fonctions vitales (alimentation, déplacement, reproduction, etc.).

botulisme C/D en France⁴⁹ et C en Italie (Woudstra et al. 2012; Defilippo et al. 2013) affectant l'avifaune sauvage. Ces investigations ont permis en effet l'identification de la toxine chez des animaux moribonds et/ou de la bactérie par PCR dans des cadavres, et pour les ragondins, dans des fèces collectées en bordure d'étang en cours d'épisode botulique dans l'avifaune sauvage.

Deux cas d'infection à *C. botulinum* chez des loutres d'Europe (animaux trouvés morts) ont été aussi détectés en France dans le cadre du réseau SAGIR (« surveiller pour agir », voir § 3.3.4.1). À noter que *C. botulinum* C/D dans un cas et *C. botulinum* C/D et E dans l'autre ont été détectés sans que la cause de la mort n'ait pu être attribuée avec certitude au botulisme (signes cliniques non observés chez les animaux et présence concomitante de cyanotoxines). La contamination de ces animaux pourrait être en rapport avec leur mode de vie (contact étroit avec l'environnement contaminé, eau) ou leur comportement alimentaire, végétarien pour les ragondins (cf. § 3.3.4.4) et à dominance piscivore (régime alimentaire composé principalement de poissons, voire de grenouilles et d'écrevisses) pour la loutre.

Bien que visons et furets (*Mustela putorius furo*, forme domestique du putois) soient hautement sensibles à la toxine botulique, notamment à la toxine C (Harrison et Borland 1973; Lindström et al. 2004) en conditions expérimentales ou d'élevage, le GT ne dispose pas de données relatives à des signalements en milieu naturel d'atteinte de visons et putois lors d'épisodes de botulisme aviaire en faune sauvage dans les zones humides, ce qui pourrait être lié à la faible détectabilité de leurs cadavres dans la nature.

3.3.3.1.2. Autres mammifères sauvages

Des cas de botulisme affectant des mammifères fréquentant des zones humides ont été signalés chez des rats laveurs et des renards.

Hannet et al. (2011) ont signalé des cas de botulisme de type E chez deux rats laveurs (détection de la toxine E dans le foie et le contenu digestif de ces animaux) collectés lors d'un épisode de botulisme E dans la région des Grands Lacs d'Amérique du Nord.

Le botulisme a surtout été décrit chez des renards, sans qu'il s'agisse néanmoins de cas détectés en relation avec des épisodes de botulisme en zone humide. Des cas ont été notamment décrits en Finlande chez des renards arctiques *Vulpes lagopus* mais dans des élevages et suite à la distribution d'aliments fortement contaminés par de la toxine de type C (Lindström et al. 2004). Des cas ponctuels ont été plus récemment signalés sur de jeunes renards roux trouvés sur une plage en Grande-Bretagne (Barlow et al. 2024) et chez un renard ayant présenté une paralysie partielle (identification du sous-type C/D à partir d'un écouvillon rectal) au lac de Grand Lieu en France en 2023 (C. Le Maréchal, communication personnelle). En fait, le renard s'avère très résistant aux toxines de type C comme aux toxines de type E (Yndestad, Helgebostad, et Loftsgård 1977) ; la dose létale par voie digestive de la BoNT C chez le renard est estimée entre 10^3 à 10^8 MLD. Les cas sont donc rares, et touchent plutôt des renardeaux.

De tels animaux, du fait de leur régime alimentaire omnivore et charognards, peuvent être exposés au botulisme s'ils consomment des oiseaux atteints.

⁴⁹ *C. botulinum* de sous-type C/D a été détecté d'une part à plusieurs reprises chez des ragondins, via le réseau SAGIR, et d'autre part dans des fèces de ragondins et à partir d'écouvillons rectaux de ragondins piégés (Meloni et al., soumis pour publication).

Les signes cliniques décrits chez ces animaux étaient des paralysies flasques (paralysie des pattes arrière, paralysie totale et position couchée). Les renards présentant des signes plus légers étaient souvent trouvés en position assise ou se déplaçant en traînant la partie arrière de leur corps (Lindström et al. 2004).

3.3.3.2. Mammifères domestiques

Les espèces concernées ici sont d'une part les herbivores fréquentant les prairies exploitées pour le pâturage dans ou en bordure des zones humides contaminées et d'autre part les chiens accompagnant des promeneurs ou des chasseurs dans ces sites.

3.3.3.2.1. *Cas des herbivores domestiques*

Des prairies, parfois inondables, situées en bordure des plans d'eau dans les zones humides peuvent être affectées au pâturage pour assurer l'entretien du milieu. Les animaux concernés par le pâturage sont souvent des bovins, éventuellement des ovins, caprins et chevaux. Ces animaux sont principalement exposés lorsqu'ils ingèrent des parties de cadavres d'oiseaux en putréfaction. Il est à noter toutefois que, si on se rapporte à la situation en France, aucun cas de botulisme chez ces espèces, bien que sensibles au botulisme, n'a fait l'objet d'un signalement dans le contexte présentement étudié.

3.3.3.2.2. *Cas du chien*

Bien que le chien soit considéré relativement résistant aux BoNTs, des cas de botulisme sont occasionnellement décrits chez cette espèce (Barsanti et al. 1978; Barsanti 2006). La grande majorité des cas de botulisme canin répertoriés en France ont été décrits comme de type C (Bruchim et al. 2006). Deux cas de type D (Doutre 1982; 1983)⁵⁰, un cas de type B (Lamoureux, Pouzot-Nevoret, et Escriou 2015) et des cas de botulisme C/D chez des chiens de chasse ou plus récemment des chiens de troupeau (C. Le Maréchal, communication personnelle) ont également été diagnostiqués en France.

Les cas de botulisme de type C ou de sous-type C/D surviennent le plus souvent chez des chiens de chasse (Barsanti et al. 1978, C. Le Maréchal, communication personnelle) ou accompagnant des promeneurs (Farrow et al. 1983), ayant consommé des cadavres d'oiseaux. Le botulisme de type C a été aussi décrit chez des chiens consommant des cadavres de poulet ou nourris avec des carcasses ou de la viande de volaille crue (Silva et al. 2018, C. Le Maréchal, communication personnelle).

Le botulisme se déclare, en fonction de la quantité de toxine ingérée, quelques heures à six jours après consommation du cadavre de l'oiseau. Plus les signes apparaissent rapidement (paralysie des membres postérieurs rapidement suivie de tétraplégie, etc.), plus la maladie est grave. Une récupération spontanée est observée en 14 à 24 jours si la quantité de toxine ingérée n'est pas trop importante et/ou si l'animal reçoit les soins appropriés (Barsanti 2006; Bruchim et al. 2006; Uriarte, Thibaud, et Blot 2010).

⁵⁰ Le diagnostic des cas de botulisme associés aux toxines produites par des souches de *C. botulinum* de groupe III recensés avant les années 2000 était fondé sur la caractérisation de la toxine dans le sérum par le test de séroneutralisation sur souris et ne permettait pas d'identifier les sous-types mosaïques C/D ou D/C.

Associés à l'anamnèse, les premiers signes cliniques observés (faiblesse croissante et paralysie flasque ascendante) et l'examen neurologique révélant un dysfonctionnement diffus des motoneurones inférieurs (LMD pour *lower motor neuron*) (Barsanti 2006; Uriarte, Thibaud, et Blot 2010) laissent suggérer un cas de botulisme, à confirmer par une détection de la toxine dans des échantillons de sérum, fèces et/ou contenu gastrique.

Le traitement de l'animal passe généralement par son hospitalisation dans une clinique vétérinaire. Il s'agit d'un traitement de soutien, éventuellement associé à l'administration précoce d'antitoxine C si elle est disponible. Un fois guéri, le chien ne conserve aucune séquelle.

La prévention chez les chiens de chasse serait en théorie leur vaccination avec une anatoxine de type C. En effet, aucun vaccin contre le botulisme ne dispose d'AMM chez le chien, mais il est possible, selon le principe de la cascade d'utiliser un vaccin destiné aux ruminants. Pour les chiens accompagnant leur maître en promenades dans un site à risque, la prévention la plus efficace passe par leur tenue en laisse afin d'éviter autant que possible qu'ils ne consomment des cadavres contaminés.

Des mammifères sauvages ou domestiques vivant ou fréquentant les zones humides peuvent contracter le botulisme lors d'épisodes affectant les oiseaux sauvages.

Le ragondin est, parmi les mammifères sauvages semi-aquatiques présents dans ces sites, l'espèce la plus régulièrement identifiée comme atteinte de botulisme (botulisme de sous-type C/D en particulier). Le botulisme peut aussi toucher les chiens accompagnant des chasseurs ou des promeneurs sur un site contaminé et consommant des cadavres d'oiseaux. Les cas de botulisme C/D rapportés chez des chiens surviennent en cas d'ingestion de tout ou une partie de cadavres d'oiseaux infectés trouvés sur leur parcours.

3.3.4. Données épidémiologiques sur *C. botulinum* et le botulisme dans la faune sauvage et les milieux aquatiques en France

3.3.4.1. Botulisme aviaire en faune sauvage en France

En France, sur la période 2009 - 2019, une vingtaine de cas⁵¹ de botulisme en faune sauvage ont été confirmés en moyenne annuellement par des analyses en laboratoire par le CNR ou le LNR botulisme aviaire (Le Bouquin et al. 2022). Le toxinotype C/D a été identifié dans 84 % des cas dans l'avifaune sauvage (Le Bouquin et al. 2022). Ces données ne correspondent cependant qu'aux cas pour lesquels une analyse a été demandée par les gestionnaires locaux et menée dans un de ces deux laboratoires et le nombre de cas est très certainement sous-estimé.

Les experts du GT ont donc décidé de rapporter également les données du réseau SAGIR sur la période 2014 - 2023. Le réseau SAGIR est le réseau de surveillance événementielle des causes de mortalités dans la faune sauvage en France. Il repose sur la détection de signaux de mortalité/morbidité anormaux, sans présumer de l'étiologie. Dans chaque département, deux interlocuteurs techniques (ITD), l'un au sein du service départemental de l'OFB, l'autre

⁵¹ Le terme cas est utilisé pour des infections en faune sauvage sur un même site (peut concerner un ou plusieurs animaux).

au sein de la Fédération départementale des chasseurs animent un réseau d'observateurs de la mortalité (chasseurs, naturalistes, agriculteurs, etc.). Les signaux de mortalité/morbidité anormaux impulsent souvent la collecte des cadavres. L'appréciation de ces signaux est laissée aux ITD, détenteurs de la connaissance de terrain. Les cadavres ne sont pas recherchés de façon active, ils sont découverts de façon fortuite. Le réseau SAGIR opère ainsi une surveillance continue dans le temps et généraliste sur tout le territoire français. La mise en évidence d'un agent pathogène ne résulte pas d'un dépistage systématique, sauf dans des programmes spécifiques, mais d'une démarche diagnostique, effectuée par les laboratoires vétérinaires départementaux, pour déterminer les processus ayant abouti à la mort des animaux. L'échantillonnage, qui peut être qualifié d'échantillonnage de commodité ou de convenance, est donc non probabiliste et repose sur la facilité d'obtention de l'échantillon (accessibilité des cadavres d'animaux) et sur le volontariat d'observateurs et de collecteurs, plutôt que sur la maîtrise statistique du processus d'échantillonnage. La sélection des individus analysés est soumise à une série de filtres non standardisés (détectabilité du ou des cadavres, filtres liés à la déclaration, à la collecte, au transport et au stockage, à la possibilité d'analyse et à la saisie des données), qui sont autant de biais de sélection entrant en jeu dans la constitution de l'échantillon et qui devront être pris en compte pour l'analyse et l'interprétation des données (Decors et al. 2022).

Les données de botulisme aviaire issues du réseau SAGIR et les cas pour lesquels des prélèvements ont été acheminés et analysés directement par le LNR botulisme aviaire, sans passer par le réseau SAGIR sur la période 2014 - 2023, sont présentées par espèces et types toxiniques dans la Figure 3. L'unité est l'événement qui correspond à un regroupement de cas d'oiseaux d'une même espèce trouvés dans une même zone (rayon 1 km) dans un intervalle de 24 h.

Les types toxiniques indiqués correspondent à ceux détectés par les différentes méthodes d'analyses. Le sous-type C/D est très majoritairement détecté. Les types C et D sont également rapportés mais sans information sur la méthode d'analyse utilisée ; ceux-ci peuvent donc correspondre aux types C, D ou aux sous-types mosaïques C/D ou D/C.

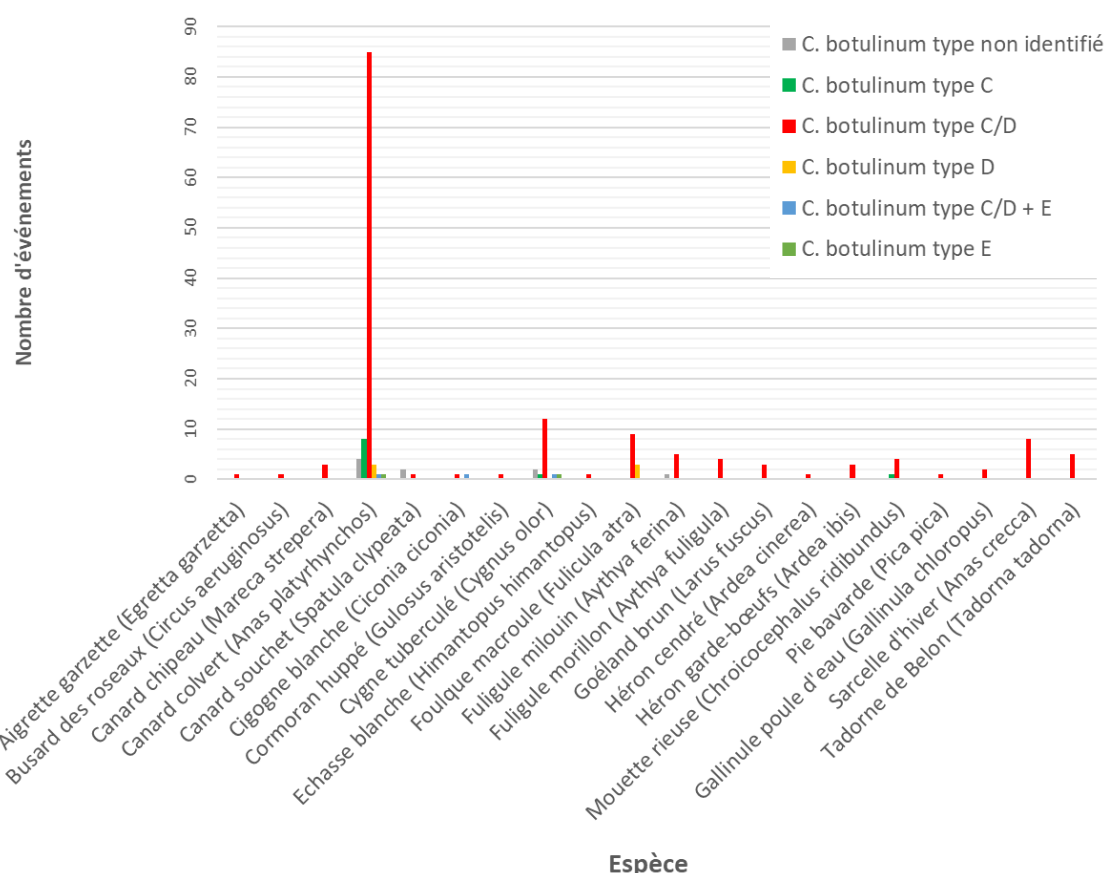


Figure 3. Distribution des espèces d'oiseaux sauvages pour lesquelles un résultat positif a été détecté en fonction des types toxiques (données SAGIR et LNR botulisme aviaire) sur la période 2014 - 2023 (nombre total d'événements⁵² : 182).

À noter que *C. botulinum* E a été détecté lors d'épisodes de mortalité, (cf. Tableau 4), de manière concomitante avec *C. botulinum* C/D (détection simultanée dans le même organe d'un seul oiseau analysé). Le type E a également été détecté une fois de manière isolée, lors d'un épisode de mortalité des oiseaux à l'été 2023 sur un site qui n'avait pas fait l'objet de rapport d'analyse de cas de botulisme auparavant. Le fait que ces cas de botulisme de type E aient été rapportés dans des régions et départements différents et sur des espèces d'oiseaux différentes (canard colvert, mouette rieuse et cygne tuberculé), ne suggère pas un lien avec une zone géographique en particulier ou un comportement spécifique des oiseaux en lien avec le type E (en particulier, les espèces touchées ne sont pas toutes ichtyophages). Par ailleurs, les analyses ayant mis en évidence le type E ont été réalisées par trois laboratoires différents, ne suggérant donc pas de biais lié aux analyses.

Pour comparaison au niveau mondial, les cas de botulisme aviaire de type E sont rapportés essentiellement au niveau des Grands Lacs en Amérique du Nord. Un épisode a également été détecté aux Pays-Bas en 2016 sur des grands cormorans *Phalacrocorax carbo* (Koene 2022). Une exposition par les poissons a été suspectée dans cet épisode. Il n'existe pas à la connaissance des experts de données pour d'autres pays. Aussi, il n'y a pas d'éléments d'explication formulée dans la littérature concernant la détection concomitante du sous-type

⁵² Événement : regroupement de cas d'oiseaux d'une même espèce trouvés dans une même zone (rayon 1 km) dans un intervalle de 24h.

C/D et du type E à partir d'un même échantillon (Tableau 4) et l'implication de chaque toxine dans les signes cliniques observés.

Tableau 4. Liste des cas de botulisme aviaire en faune sauvage de type E recensés depuis 2009 en France à travers des analyses en laboratoire (tests PCR et/ou test de séroneutralisation sur souris).

Année	Mois	Type toxinique détecté	Espèces	Laboratoire ayant réalisé les analyses
2018	Août	C/D et E	Canard colvert	LNR
2018	Septembre	C/D et E	Cygne tuberculé	CNR
2018	Octobre	C/D et E	Cigogne blanche	LNR
2023	Août	E	Cygne tuberculé, canard colvert	CNR
2023	Septembre	C/D et E	Non renseigné	LABOCEA

Concernant les espèces aviaires atteintes par le botulisme, la Figure 3 montre une très grande prédominance du canard colvert. Les autres espèces retrouvées affectées sont le cygne tuberculé *Cygnus olor*, le goéland brun *Larus fuscus*, le fuligule milouin *Aythya ferina*, la sarcelle d'hiver *Anas crecca* et la foulque macroule *Fulica atra*. Les canards colverts ont déjà été rapportés dans d'autres études comme une espèce particulièrement sensible au botulisme (Woo et al. 2010; Vidal et al. 2013; Anza et al. 2016; Ventujol et al. 2017).

La distribution spatiale des événements SAGIR entre 2014 et 2023 (Figure 4) montre une répartition sur tout le territoire hexagonal avec une concentration spatiale d'événements rapportés et ayant fait l'objet d'une recherche de botulisme dans le nord-ouest.

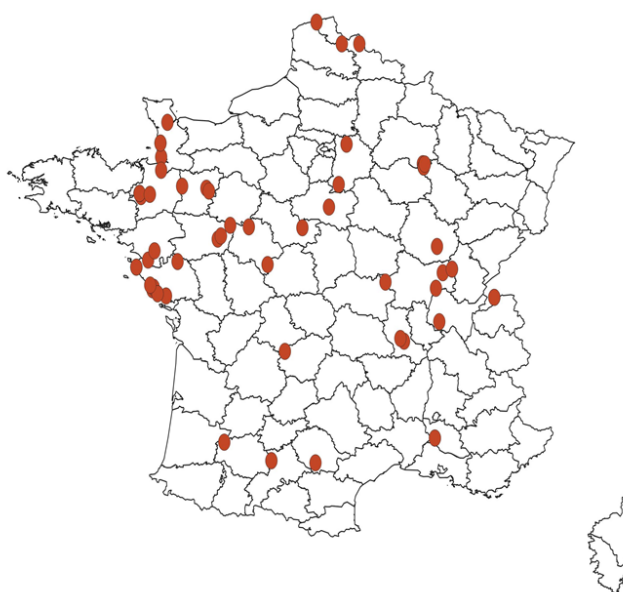


Figure 4. Distribution spatiale des événements pour lesquels un résultat positif en *C. botulinum* et/ou toxines a été détecté entre 2014 et 2023 (données réseau SAGIR).

Il faut cependant prendre en compte le type de surveillance opportuniste opérée par le réseau SAGIR qui ne garantit en aucun cas une pression de surveillance homogène sur tout le territoire (Decors et al. 2022). Il faut également garder à l'esprit que dans les zones où le botulisme est récurrent, les gestionnaires ne réalisent plus systématiquement d'analyses, malgré la présence d'épisodes réguliers. L'absence de points sur la carte ci-dessous n'indique donc pas l'absence d'épisodes de botulisme.

Par ailleurs, les dérèglements climatiques semblent globalement plutôt favorables au développement de *C. botulinum* dans les plans d'eau (Espelund et Klaveness 2014), notamment parce qu'ils favorisent l'élévation des températures de l'eau, les apports de matières organiques par des événements pluvieux extrêmes, le développement de proliférations de cyanobactéries qui génèrent des biomasses importantes, la baisse du niveau des plans d'eau par l'augmentation de l'évaporation et par la diminution des apports en eaux, etc. Ainsi, les experts estiment que la fréquence des épisodes de botulisme dans la faune sauvage risque d'augmenter dans les années à venir.

3.3.4.2. Contamination environnementale

Le lien systématique entre la présence de *C. botulinum* dans l'environnement, et notamment dans les sédiments d'un étang, et les épisodes de botulisme chez les oiseaux sauvages n'est pas totalement établi, et les facteurs à l'origine de l'initiation d'un épisode de botulisme aviaire en faune sauvage ne sont pas complètement compris au moment de la rédaction du rapport. Une revue exhaustive de la littérature a été rédigée en 2019 dans le rapport socle, et seuls quelques éléments sont résumés ici (paragraphe 3.2.1 du rapport de l'Anses (2021a)). La plupart des scénarii décrits dans la littérature partent du postulat de la présence de spores de *C. botulinum* dans l'environnement des oiseaux. Il a ainsi été rapporté que *C. botulinum* type C est présent dans les sédiments d'étangs ou d'estuaires avec des prévalences très variables selon les études : entre 1,7 % et 18 % en Espagne (Contreras de Vera et al. 1991; 1987), 5,6 % en Floride (Marion et al. 1983), 74 à 83 % en Autriche (Zechmeister et al. 2005), 52 % en Californie (Sandler et al. 1993), 38 % au Canada (Wobeser, Marsden, et MacFarlane 1987) et entre 19,4 % et 51,5 % au Royaume-Uni (Smith, Oliphant, et White 1982). Concernant *C. botulinum* type E, une prévalence de 81 % des sédiments prélevés dans la mer Baltique et 61 % des échantillons de sédiments en eau douce en Finlande (Hielm, Hyytiä, et al. 1998). Aux États Unis, *C. botulinum* E a été détecté dans 15 échantillons de sédiments du lac Érié sur les 17 collectés (Hannett et al. 2011). Une étude menée dans l'estuaire de la Canche en France, où un des épisodes massifs de botulisme aviaire de type E avait été détecté en 1996, a montré la présence de *C. botulinum* type E dans un échantillon sur les 25 sédiments collectés⁵³ (Fach et al. 2002). De plus, certaines études dans d'autres pays n'ont pas montré de différence en termes de fréquence de détection de *C. botulinum* entre des sites avec historique de botulisme et des sites sans (Sandler et al. 1993; Herzig et Farnleitner 2005), alors que d'autres rapportent une fréquence plus faible au niveau des sédiments dans les sites sans historique de botulisme (6,2 % contre 59,2 %) Wobeser, Marsden, et MacFarlane (1987). Outre la présence de *C. botulinum* dans les sédiments, la bactérie a également été détectée sur les végétaux (*Ceratophyllum*, *Phragmites* (communément appelés roseaux), *Schoenoplectus* (Scirpes), *Cladophora*) (Heckman 1986; Skulberg et Holt 1987; Byappanahalli et Whitman 2009; Chun et al. 2013) dans des invertébrés aquatiques (insectes et crustacés)

⁵³ D'après les auteurs de l'étude, les prélèvements ont été faits au moins deux ans après l'épisode.

dans des sites avec historique de botulisme (Hubálek et Halouzka 1991; Vidal et al. 2013; Duncan et Jensen 1976).

En France, avant 2022, peu de données avaient été produites concernant la contamination environnementale des étangs par *C. botulinum* de sous-type C/D et de type E. Pour évaluer cette contamination une étude menée par des équipes de l'Anses en collaboration avec l'OFB et le CNR (projet AMI botulisme faune sauvage) a été conduite⁵⁴, avec différentes configurations étudiées (précisées dans les paragraphes ci-dessous) :

- étangs au niveau desquels des épisodes récurrents de botulisme ont été détectés,
- étangs localisés dans la même zone géographique que les étangs précédents mais sans historique de botulisme,
- ensemble d'étangs connectés au niveau desquels le botulisme a été observé de manière récurrente sur un seul des étangs.

Les résultats obtenus lors de cette étude sont présentés ci-dessous.

3.3.4.2.1. Détection de *C. botulinum* de sous-type C/D et de type E dans des étangs français avec historique de botulisme aviaire

Trois étangs connaissant des épisodes récurrents de botulisme ont été sélectionnés à partir de la base de données du LNR botulisme aviaire. Ils sont situés dans l'Ouest de la France et aménagés pour permettre la promenade du grand public. L'étang 1 est un espace naturel sensible (ENS⁵⁵) alimenté par un ruisseau et géré par le département. Il est aménagé avec des observatoires ornithologiques, un chemin de randonnée et bordé d'exploitations agricoles. L'étang 2 est également un espace naturel sensible et, de plus, une zone naturelle d'intérêt écologique, faunistique et floristique. Il est bordé d'exploitations agricoles. Des observatoires ornithologiques sont présents. L'étang est utilisé pour la pêche de loisir, la chasse et la promenade. La communauté de communes en est propriétaire et sa gestion est déléguée à un centre permanent d'initiatives pour l'environnement (CPIE). L'étang 3 est situé à côté du centre-ville d'une commune qui en est le gestionnaire. Il est utilisé pour la pêche de loisir et est une zone de promenade très fréquentée. Des épisodes de botulisme de sous-type C/D ont été détectés à plusieurs reprises sur ces trois étangs.

Deux séries de prélèvements (sédiments, eau, végétaux en bordure des étangs, pédichiffonnettes au niveau des berges) ont été collectées dans chacun de ces étangs sur différents sites localisés sur le pourtour des plans d'eau : une série a été collectée en décembre 2022 et la seconde en septembre 2023 (56 échantillons en tout, cf. Tableau 5). L'homogénéité de la distribution de *C. botulinum* dans les matrices n'est pas documentée.

Les échantillons ont été congelés jusqu'à l'analyse. Une incubation à 70 °C pendant 1 h a été appliquée juste avant leur mise en analyse. Les sédiments et végétaux (25 g) ont ensuite été dilués au dixième dans un bouillon TPGY (tryptone, peptone, glucose, yeast), les prélèvements d'eau (100 g) au demi dans du TPGY double concentration et les

⁵⁴ Dans la continuité de cette étude un projet de recherche CHABOTé « Conditions Hydro-écologiques d'Apparition du Botulisme et Occurrence de Toxines en Étangs » piloté par l'OFB en collaboration avec l'Anses, l'université de Lorraine et l'Institut Pasteur (CNR) a démarré en janvier 2024 pour une durée prévue de 5 ans. Ce projet a pour objectif l'étude des facteurs et mécanismes écologiques conduisant à l'initiation d'un épisode de botulisme.

⁵⁵ Espace naturel sensible : aire protégée, définie par la législation française, acquise ou gérée par un département.

pédichiffonnettes mises en suspension dans 250 mL de TPGY. Ils ont ensuite été homogénéisés à l'aide d'un *Pulsifier* pendant 15 secondes et incubés 18 h à 37 °C en conditions anaérobies. Après une étape d'extraction à l'aide d'un kit commercial, les gènes codant les toxines C/D et E ont été détectés par PCR. Les résultats obtenus sont synthétisés dans le Tableau 5. Du fait de l'application du traitement thermique à 70 °C pendant 1 h, il faut considérer que seules les formes sporulées ont été mises en évidence.

Les résultats montrent une détection de *C. botulinum* de sous-type C/D et/ou de type E dans la majorité des échantillons lors des deux campagnes de prélèvement (Tableau 5). La présence de *C. botulinum* de sous-type C/D et/ou de type E a été détectée dans tous les sédiments. Il est à noter que seul *C. botulinum* de sous-type C/D a été détecté dans les échantillons d'eau mais pas *C. botulinum* de type E.

Ces résultats montrent que *C. botulinum* sous-type C/D et *C. botulinum* type E sont présents dans l'environnement d'étangs où des épisodes de botulisme aviaire sont rapportés de manière récurrente.

Tableau 5. Synthèse des résultats de détection par PCR après enrichissement des spores de *C. botulinum* de sous-type C/D et de type E au niveau de l'environnement de trois étangs avec historique de botulisme aviaire C/D.

Étang	Étang N°1						Étang N°2				Étang N°3			
	Déc 2022			Sept 2023			Déc 2022		Sept 2023		Déc 2022		Sept 2023	
Localisation	Site 1	Site 2	Site 3	Site 1	Site 2	Site 3	Site 1	Site 2	Site 1	Site 2	Site 1	Site 2	Site 1	Site 2
Sédiments	C/D et E	C/D et E	E	C/D et E	C/D et E	C/D et E	C/D	C/D	C/D et E	C/D	C/D et E	C/D et E	C/D et E	C/D et E
Eau	-	-	C/D	C/D	-	-	C/D	C/D	C/D	C/D	C/D	C/D	C/D	C/D
Végétaux	C/D ou E	C/D et E	E	C/D et E	-	C/D et E	C/D	C/D	C/D	C/D	C/D et E	C/D	C/D	C/D et E
Pédichiffonnette	C/D et E	C/D et E	-	C/D et E	C/D et E	C/D et E	C/D	C/D	C/D	C/D	C/D et E	-	C/D et E	C/D et E

- : non détecté, C/D : *C. botulinum* sous-type C/D détecté, E : *C. botulinum* type E détecté.

3.3.4.2.2. Détection de *C. botulinum* de sous-type C/D et de type E dans des étangs sans historique de botulisme aviaire

Deux étangs sans historique connu de botulisme ont été sélectionnés dans la même zone géographique que les étangs présentés précédemment (grand ouest de la France) mais sans connexion avec eux. Aucune mortalité anormale d'oiseaux n'a été observée sur ces étangs et aucune analyse sur des prélèvements en provenance d'animaux dans le cadre d'un diagnostic de botulisme n'y a été réalisée en amont de la présente étude.

L'étang 4 est géré par le département. Il est alimenté par plusieurs ruisseaux et entouré d'une forêt. Une partie est accessible au grand public pour la randonnée et c'est un site d'hivernage pour les oiseaux. Il se situe à une quinzaine de km de l'étang 1. L'étang 5 est aussi géré par le département et est classé espace naturel sensible. Il est utilisé pour la pêche, la chasse, la promenade. Il se situe à une quinzaine de km de l'étang 3 et une trentaine de km de l'étang 2. Des prélèvements ont été collectés à trois reprises (mars, juin et septembre 2024) pour l'étang 4 et une seule fois pour l'étang 5 (juillet 2024).

La méthode d'analyse utilisée est identique à celle décrite ci-dessus.

Les résultats montrent l'absence de détection des spores de *C. botulinum* de sous-type C/D dans l'ensemble des échantillons (Tableau 6). En revanche, *C. botulinum* de type E a été détecté au niveau de l'étang 4 mais pas au niveau de l'étang 5.

Tableau 6. Synthèse des résultats de détection par PCR après enrichissement des spores de *C. botulinum* de sous-type C/D et de type E au niveau de l'environnement de deux étangs sans historique de botulisme aviaire.

Etang	Etang N°4															Etang N°5			
Date	mars-24					juin-24					sept-24					juil-24			
Localisation	Site 1	Site 2	Site 3	Site 4	Site 5	Site 1	Site 2	Site 3	Site 4	Site 5	Site 1	Site 2	Site 3	Site 4	Site 5	Site 1	Site 2	Site 3	Site 4
Sédiments	E	E	-	-	NT	E	E	E	E	E	E	E	E	E	NT	-	-	-	-
Eau	-	-	-	-	-	NT	NT	NT	NT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Végétaux	E	E	-	E	NT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NT	-	-	-	-
Pédichiffonnette	-	-	-	-	NT	NT	NT	NT	NT	-	E	E	E	NT	-	-	-	-	-

- : non détecté, E : *C. botulinum* type E détecté, NT : non testé.

3.3.4.2.3. Détection de *C. botulinum* de sous-type C/D et de type E dans des étangs interconnectés

Dans de nombreuses situations, des épisodes de botulisme en faune sauvage sont rapportés sur un seul étang parmi plusieurs étangs connectés entre eux sur le plan hydrologique (étangs situés en amont/aval les uns des autres).

Aussi, dans le cadre de l'étude sur la contamination environnementale, des prélèvements ont été collectés sur deux sites sur lesquels des épisodes de botulisme ont été observés sur un seul étang parmi un ensemble d'étangs connectés. Le premier site est situé dans l'est de la France et constitué de trois étangs, les épisodes de botulisme étant observés au niveau de l'étang le plus en amont. Ce site, géré par l'OFB, est équipé d'observatoires ornithologiques et accueille une forte population d'oiseaux migrateurs. Le second site est situé dans le sud-ouest et constitué de quatre étangs, les épisodes de botulisme n'étant observés que dans le troisième étang aval. Il est géré par le conservatoire du littoral, et est localisé en aval d'un bassin versant.

Des sédiments ont été collectés au niveau de chacun des étangs des deux sites et ont été analysés selon la méthode décrite précédemment.

C. botulinum C/D et E ont été détectés dans les sédiments de l'ensemble des étangs, qu'ils soient documentés pour connaître ou ne pas connaître des épisodes de botulisme.

3.3.4.2.4. Bilan et discussion des résultats

Une très large contamination des sédiments et végétaux par *C. botulinum* de sous-type C/D et de type E sur des sites avec un historique de botulisme aviaire de sous-type C/D a été détectée lors de l'ensemble des visites. Ces résultats confirment ceux de la littérature. Cependant, cette étude montre la présence à la fois de *C. botulinum* sous-type C/D et de *C. botulinum* E alors que dans les études précédentes un seul type toxinique avait été identifié. Malgré la présence des deux types toxiques, ce sont uniquement des épisodes de botulisme aviaire de sous-type C/D qui ont été observés chez les oiseaux au niveau de ces étangs.

C. botulinum C/D n'a pas été mis en évidence dans l'environnement des deux étangs sans historique de botulisme, montrant que la présence de *C. botulinum* C/D n'est pas systématique dans les étangs ou à un niveau inférieur à celui détectable par la méthode employée.

C. botulinum E a été détecté dans les sédiments de presque tous les étangs investigués ici (absent dans un seul), alors que ce type toxinique est très rarement détecté dans les épisodes de botulisme aviaire en France. Le fait d'observer des cas de botulisme spécifiquement attribués à *C. botulinum* de type E dans quelques sites (Tableau 4) soulève la question de

l'identification des facteurs (environnementaux ou autres) qui conditionnent les épisodes de botulisme aviaire de type E.

Enfin, les résultats obtenus au niveau des étangs interconnectés, pour lesquels la même fréquence de détection a été observée qu'ils connaissent ou non des épisodes de botulisme et quelle que soit la position amont ou aval de l'étang ne connaissant pas de botulisme par rapport à celui qui en connaît, suggèrent que des conditions particulières permettent la croissance de *C. botulinum* C/D dans l'étang au niveau duquel les épisodes de botulisme sont observés, conditions qui ne sont à priori pas retrouvées dans les autres étangs et qui restent à identifier.

3.3.4.3. Sources de contamination et circulation de *C. botulinum* dans un écosystème lentique

Les sédiments représentent une source pérenne de *C. botulinum* de sous-type C/D et de type E, sous forme sporulée. C'est à partir de ce compartiment que les spores peuvent être mobilisées suite à différents phénomènes d'origine biotique ou abiotique (cf. § 3.3.4.4) et être hébergées, germer et se multiplier au sein d'un certain nombre d'organismes animaux et végétaux. Ceux-ci, non sensibles à la toxine, peuvent transférer la bactérie et sa toxine entre le réservoir et les animaux vertébrés sensibles, notamment au travers de la chaîne alimentaire (Espelund et Klaveness 2014). Une liste des espèces aquatiques et des invertébrés pouvant intervenir comme vecteurs mécaniques est présentée dans le rapport de l'Anses (2021a).

Les résultats présentés ci-dessus suggèrent que les spores de *C. botulinum* C/D qui affecte les oiseaux ne sont pas présentes (en tout cas non détectées par la méthode utilisée) dans les étangs sans historique de botulisme, ce qui corrobore les résultats d'études en Europe (Zechmeister et al. 2005; Le Dréan-Quenec'hdu, Marion, et Popoff 2005) mais pas ceux d'une étude menée en Californie (Sandler et al. 1993). Ainsi dans ces étangs sans historique de botulisme, *C. botulinum* de sous-type C/D n'est peut-être pas présent ou pas en assez grande quantité pour exposer les oiseaux à un niveau suffisant.

3.3.4.4. Modalités et facteurs de développement des épisodes botuliques dans l'avifaune sauvage

3.3.4.4.1. *Phénomènes écologiques en étang conduisant aux conditions favorables pour le développement de *C. botulinum**

- **Cycle de la matière organique**

- autochtone (issue de la dégradation des végétaux, zooplancton, invertébrés, excréta de macro-invertébrés, etc.)

En France, dans les écosystèmes lenticques, une première phase de croissance des végétaux aquatiques débute généralement en mai (Mulhauser et al. 1995), ces végétaux contribuent à la production de périphyton⁵⁶ et au développement des macro-invertébrés benthiques qui viennent s'y nourrir (Mulhauser et al. 1995). Ce périphyton peut également servir de matrice pour *C. botulinum*. Ensuite, deux phases de dégradation de végétaux aquatiques peuvent être

⁵⁶ Périphyton : organismes aquatiques tant autotrophes (Diatomées par exemple) qu'hétérotrophes (protistes, petits invertébrés) vivant fixés à la surface des substrats immergés qu'ils soient biologiques (plantes aquatiques ou amphibies) ou minéraux (rochers lisses). Source : (Ramade 2008).

observées : une première, vers fin juin/début juillet (qui concerne par exemple les renoncules ou potamots) puis une seconde, après l'été en septembre (cératophylles et charas) (Banas et al. 2002). Le développement en été des micro- et macroorganismes photosynthétiques peut générer une biomasse très importante qui, lorsqu'elle se dégrade, s'accompagne d'une diminution des concentrations en oxygène dissous pouvant aller jusqu'à l'anoxie complète dans les sédiments superficiels et à l'interface eau-sédiments. Cette diminution des concentrations en oxygène combinée aux températures élevées de l'eau et aux grandes quantités de matière organique disponibles favorisent la germination puis la multiplication de *C. botulinum* (Rocke, Euliss, et Samuel 1999; Pérez-Fuentetaja et al. 2011; Anza et al. 2014).

- allochtone (transferts depuis des bassins versants, apports anthropiques)

La matière organique allochtone peut être d'origine naturelle, à la suite de phénomènes météorologiques tels que des fortes pluies, qui vont entraîner un transfert de matière depuis le bassin versant et favoriser l'accumulation de débris organiques (Quortrup et Holt 1941; Rocke, Euliss, et Samuel 1999; Barras et Kadlec 2000). Par ailleurs, les apports en matière organique depuis le bassin versant des plans d'eau peuvent également être d'origine anthropique, en lien avec les activités agricoles (fertilisation, effluents d'élevage, etc.) ou domestiques (eaux usées non ou mal traitées) (Girardin et al. 2005; Anza et al. 2014; Circella et al. 2019).

Des mesures de gestion (assèchement ou la diminution anthropique du niveau de l'eau, vidange) peuvent également contribuer à favoriser les conditions permettant la prolifération de *C. botulinum*, par l'accumulation de matière organique et/ou la mise en suspension des sédiments (Lafrancois et al. 2011; Espelund et Klaveness 2014). Enfin, dans les étangs de faible étendue où la pêche de loisir est pratiquée de manière intensive (notamment carpodromes), les appâts peuvent être introduits en quantité potentiellement élevée et ainsi augmenter l'apport de matière organique.

Ces différents types d'apport de matière organique, associés à l'augmentation de la température, à laquelle ils contribuent également, peuvent conduire à l'eutrophisation du milieu, considérée comme un facteur de risque d'apparition d'épisode de botulisme dans un écosystème lentique (Anza et al. 2014).

- **Conditions météorologiques : température, vent, précipitations**

Les étangs dans lesquels les épisodes de botulisme ont lieu en Europe sont des plans d'eau généralement de faible profondeur ; la température de l'eau est donc fortement dépendante de la température extérieure et des conditions météorologiques telles que le vent et les précipitations. En effet, un vent fort pourra déplacer les masses d'eau supérieures et créer un courant dans la couche d'eau inférieure, ceci pouvant remettre en suspension les sédiments au fond de l'étang et donc la bactérie présente dans ce substrat et faire migrer les matières en suspension (Figure 5). Un vent plus faible et une configuration enclavée des berges peut contribuer à l'accumulation de *C. botulinum* dans les algues, la vase et les sédiments et augmenter sa concentration à certains endroits. Ce processus été montré dans la région des Grands Lacs aux États-Unis, où les concentrations de *C. botulinum* de type E étaient plus élevées dans les zones avec un vent plus faible et des plages enclavées. La direction du vent, l'orientation des berges, la taille des vagues et les courants sont autant de facteurs qui influencent l'hydrodynamique et jouent sur la distribution et la concentration de *C. botulinum* au sein des plans d'eau (Wijesinghe et al. 2015). Les précipitations peuvent également influencer

sur la température et le niveau de l'eau, et comme dit précédemment, la teneur en matière organique en suspension si les pluies sont fortes.

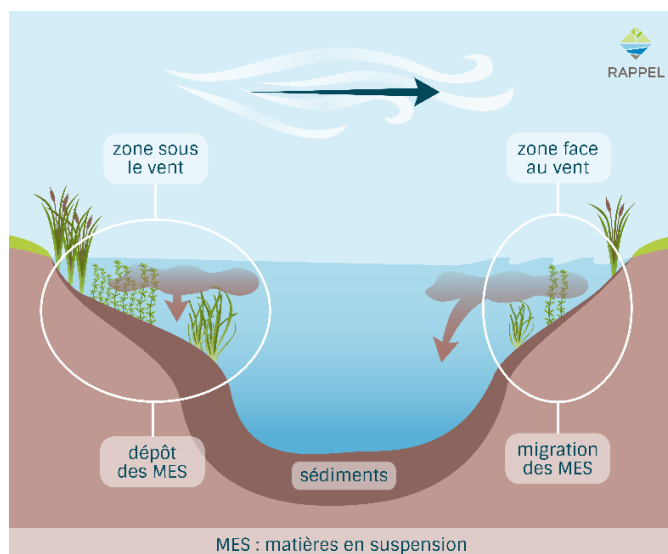


Figure 5. Exemple de l'effet du vent sur la mobilisation des sédiments et matières organiques dans un étang, pouvant augmenter la biodisponibilité de *C. botulinum* issu des sédiments (Source : <https://rappe1.qc.ca/fiches-informatives/sediments/>).

La température optimale de développement de *C. botulinum* de sous-type C/D est comprise entre 37 et 40 °C et la température minimale est de 15 °C (Tableau 2). Une température élevée de l'air va réchauffer l'eau des plans d'eau, pouvant ainsi atteindre, en été notamment, les températures permettant la prolifération de *C. botulinum*. Comme vu plus haut, la température de l'eau est également liée à d'autres phénomènes météorologiques, aux niveaux d'eau et à la phénologie des végétaux aquatiques. L'ensemble de ces phénomènes pouvant conduire aux conditions écologiques favorables à l'initiation d'un épisode de botulisme, comme représenté ci-dessous par la Figure 6.

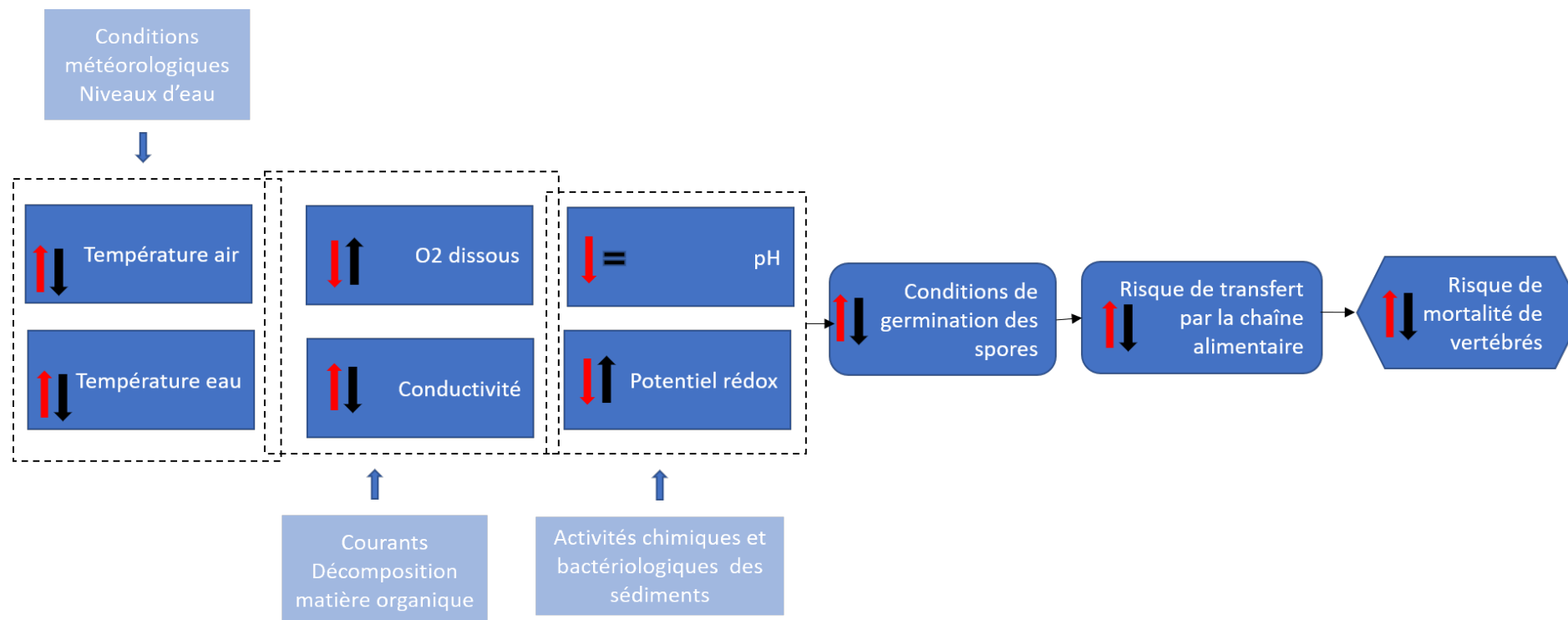


Figure 6. Schéma synthétique et hypothétique des conditions physico-chimiques favorisant l'apparition d'épisode de botulisme (Source : Pérez-Fuentetaja et al. (2011)).

Dans chaque encadré, les flèches rouges représentent l'augmentation de la température et les effets de cette augmentation sur l'évolution des autres paramètres, tandis que les flèches noires représentent la baisse de température et les effets sur les différents paramètres. Le symbole « = » dans l'encart pH indique que la baisse de température n'entraîne pas de modification de pH.

- **Abondance des espèces animales et végétales endémiques ou exotiques**

Certaines espèces piscicoles introduites massivement (carpe) ou envahissantes (poisson-chat, perche soleil, *Pseudorasbora*...) peuvent, de par leurs traits écologiques (benthique, régime alimentaire détritivore et/ou fouisseur), jouer un rôle bioturbateur⁵⁷ et ainsi entraîner la mise en suspension des spores de *C. botulinum*. Par exemple, en Afrique du Sud, Russel et al. (2019) ont suivi un réseau de lacs dans lesquels ils n'ont pas observé de variations notoires des conditions écologiques pouvant expliquer la survenue d'épisodes de botulisme en dehors de l'introduction de carpes. Dans certains cas, il semble que les mortalités massives de poissons notamment introduits pour la pêche fournissent une quantité importante de matière organique en décomposition et un substrat idéal pour la prolifération de *C. botulinum*. L'écrevisse de Louisiane *Procambarus clarkii* est également présente et prolifère dans de nombreux plans d'eau et zones humides. À l'instar d'autres crustacés (gammare et isopodes) (Hubálek et Halouzka 1991; Pérez-Fuentetaja et al. 2006; 2011), des résultats récents dans le cadre d'un projet de recherche en cours ont permis de détecter *C. botulinum* dans des écrevisses de Louisiane collectées au niveau d'un plan d'eau avec historique de botulisme (A. Payne et C. Le Maréchal, communication personnelle). Dans les étangs où elles sont présentes, les écrevisses de Louisiane constituent des populations fréquemment denses, et durablement établies et présentant un fort pouvoir de dispersion vers les milieux aquatiques alentour. De par son caractère benthique, et détritivore opportuniste, cette espèce pourrait jouer un rôle complexe tant dans la remobilisation des spores depuis les sédiments (bioturbation) que par le transfert des formes bactériennes depuis les cadavres vers les chaînes trophiques. Son pouvoir de dispersion important (d'un étang à l'autre) laisse présager la possibilité d'un transfert de contamination inter-sites sans que cela n'ait encore été démontré. Enfin, une fois implantée, cette espèce constitue également une source de nourriture importante pour certaines espèces piscicoles, aviaires et mammifères inféodées à l'étang.

Dans la région des Grands Lacs aux États-Unis, l'arrivée et l'expansion des moules zébrées *Dreissena polymorpha* est considérée comme un facteur important favorisant les épisodes de botulisme de type E dans ces écosystèmes. En effet, ce mollusque, de par son activité de filtration de l'eau puis de rejet de ses produits de digestion, concentre les spores et favorise leur dissémination (Getchell et al. 2006; Pérez-Fuentetaja et al. 2011; Lafrancois et al. 2011).

Le ragondin est une espèce exotique envahissante devenue omniprésente dans les plans d'eau en France. Il partage le même habitat que les oiseaux d'eau (vie aquatique et sur les berges) et se nourrit de végétaux. Il est sensible à *C. botulinum* mais son rôle dans la circulation de cette bactérie reste méconnu (Defilippo et al. 2013). En France, *C. botulinum* de sous-type C/D a été détecté d'une part à plusieurs reprises chez des ragondins, par le réseau SAGIR, et d'autre part dans des fèces de ragondins et à partir d'écouvillons rectaux de ragondins piégés (Meloni et al., soumis pour publication). Pour ces derniers, un profil MLVA⁵⁸ (méthode de typage des souches de *C. botulinum* de type C, D, mosaïques C/D et D/C (Souillard et al. 2021; Le Gratiet 2022)) identique à celui retrouvé chez les oiseaux touchés par le botulisme sur cette zone a été observé (Meloni et al., soumis pour publication),

⁵⁷ Bioturbateur : désigne le phénomène par lequel des organismes vivants vont par leurs déplacements ou leurs activités alimentaires induire des déplacements des matières sédimentaires superficielles, et potentiellement leur remise en suspension.

⁵⁸ Multi Loci VNTR Analysis

suggérant une source de contamination commune. La fréquence des ragondins excréant la bactérie reste toutefois à étudier.

Les espèces aquatiques végétales exotiques envahissantes peuvent également, comme les espèces autochtones, jouer un rôle en augmentant la concentration en matière organique lors de leur dégradation, en diminuant la lumière traversant la masse d'eau, ce qui aura pour effet de diminuer l'O₂ produit par les autres plantes et de créer des déséquilibres entre espèces végétales. C'est le cas par exemple des jussies (*Ludwigia spp.*) et de certaines myriophylles (*Myriophyllum verticillatum*, *Myriophyllum proserpinacoides*), très présentes sur un certain nombre de plans d'eau en France.

- **Changements dans les communautés bactériennes des plans d'eau**

De nombreux travaux ont montré ces dernières années que les communautés bactériennes libres ou attachées dans les plans d'eau peuvent subir de profondes modifications dans leur structure/composition sous l'effet de facteurs et processus biotiques et abiotiques. Ces modifications pourraient avoir un impact sur les capacités de développement de *C. botulinum*. Il a par exemple été montré que des bactéries telles que *Bacillus licheniformis*, *Bacillus mycoides/cereus*, *Streptococcus spp.* et *Clostridium spp.* ont un effet inhibiteur sur la croissance de *C. botulinum* de type C (Smith 1975; Sandler, Rocke, et Yuill 1998). Il a été montré également, par expérimentation, que certaines bactéries aérobies sont capables de dégrader la toxine botulique (Quortrup et Holt 1941; Allison, Maloy, et Matson 1976).

3.3.4.4.2. Facteurs d'exposition et de vulnérabilité des oiseaux

- **Facteurs influençant la fenêtre temporelle et spatiale d'exposition**

- Période de migration, de reproduction et de mue

Les oiseaux d'eau peuvent être soit sédentaires soit migrateurs (voire, pour quelques espèces migratrices partielles, c'est-à-dire qu'une partie des individus migrent et les autres non, le fuligule milouin et le fuligule morillon par exemple) avec une période d'arrivée et de résidence sur les plans d'eau variables selon l'espèce, la région, la météo (dans le pays d'origine) et le succès de reproduction (Dupuy et Sallé 2022).

Les populations migratrices, comme la sarcelle d'hiver, se reproduisent en Europe du Nord et arrivent en général au mois d'août-septembre pour hiverner en France. Cette date est cependant variable selon les régions et peut également dépendre de la météo et du succès de reproduction (Dupuy et Sallé 2022). En cas d'échec de reproduction, ces espèces peuvent arriver plus tôt (en juillet-août), ce qui peut allonger leur fenêtre d'exposition à la période favorable au botulisme si l'environnement dans lequel elles arrivent est contaminé.

Après avoir niché, les oiseaux rentrent en mue, période pendant laquelle ils sont très peu mobiles. En cas d'environnement fortement contaminé, ils peuvent ainsi être très exposés et ne pas pouvoir se déplacer vers une zone moins contaminée.

Il existe donc une fenêtre d'exposition temporelle propre à chaque espèce, lieu et année.

- **Facteurs intrinsèques d'exposition et de sensibilité à *C. botulinum* des espèces d'oiseaux**

Certaines caractéristiques d'espèce ou individuelles, comme le comportement de surface ou plongeur, le régime alimentaire, la taille des *cæca*, peuvent moduler l'exposition et la sensibilité des oiseaux à *C. botulinum*.

Anza et al. (2016) ont calculé un index de vulnérabilité pour les différentes espèces présentes sur trois plans d'eau touchés par le botulisme dans le centre de l'Espagne, prenant en compte la morbidité et la mortalité en pondérant par l'abondance de chaque espèce. La foulque macroule et le canard colvert étaient les espèces les plus vulnérables, suivie du canard chipeau *Mareca strepera*, de la mouette rieuse *Larus ridibundus*, du canard souchet et le flamand rose *Phoenicopterus roseus*, l'espèce la moins vulnérable (Figure 7). Ces résultats sont plutôt cohérents avec les observations rapportées en France par le réseau SAGIR et le LNR, (qui ne recensent que la mortalité et pas la morbidité) (cf. § 3.3.4.1 et Ventujol et al. (2017)). D'après les données présentées au § 3.3.4.1, parmi les espèces d'oiseaux les plus touchées par le botulisme en France, 81 % appartiennent à la famille des anatidés (dont 73 % sont représentés par le canard colvert), suivies par les rallidés (foulques et gallinules, 8 %) puis des laridés (goélands bruns et mouettes rieuses, 4 %). Outre leur abondance sur les plans d'eau français (prédominance des canards colverts notamment), cette variabilité pourrait également s'expliquer par différents facteurs propres à ces espèces comme leur régime alimentaire (omnivore, herbivore, granivore ou carnivore) ou leur comportement alimentaire en surface ou en profondeur (Adams et al. 2003; Minias, Włodarczyk, et Janiszewski 2016). En effet, les observations montrent que les anatidés et les laridés, concernés par les épisodes de botulisme, sont majoritairement omnivores ou herbivores et consomment des végétaux aquatiques, des graines et des invertébrés, dans des proportions variables selon l'espèce, la ressource et la période de l'année. Ce régime alimentaire les expose à différents vecteurs mécaniques pouvant contenir les différentes formes de *C. botulinum* et éventuellement les concentrer pour certains invertébrés comme les asticots et les gastéropodes (Duncan et Jensen 1976; Anza et al. 2016). En outre, il existe une corrélation entre le régime alimentaire et la taille et la forme des *cæca* des oiseaux : les oiseaux herbivores et omnivores ont des *cæca* plus gros que les espèces piscivores et granivores (Clench et Mathias 1995). Or les *cæca* sont une partie du système digestif présentant des conditions anaérobies dans lequel *C. botulinum* a déjà été isolé avec une fréquence aussi élevée que dans l'intestin (Vidal et al. 2011). Plus la taille des *cæca* est importante, plus le temps de rétention des digestats est élevé, la prolifération de *C. botulinum* et la toxinogénèse pourrait donc être favorisée chez les espèces ayant des *cæca* plus gros et donc chez les espèces herbivores et omnivores, dans le cas de toxi-infection. L'excrétion par voie fécale et donc la dispersion de *C. botulinum* pourrait également être accrue chez ces espèces (Anza et al. 2016).

Par ailleurs, des observations en Espagne mettent en évidence que les espèces les plus touchées sont des espèces au comportement davantage pélagique (canards de surface : canards colvert, sarcelle ; foulques) que benthique (canards plongeurs : fuligule milouin et morillon) (Anza et al. 2016). En France, c'est aussi le cas mais il faudrait pondérer avec les données d'abondance des différentes espèces, les fuligules étant des espèces benthiques qui ont également été retrouvées atteintes de botulisme.

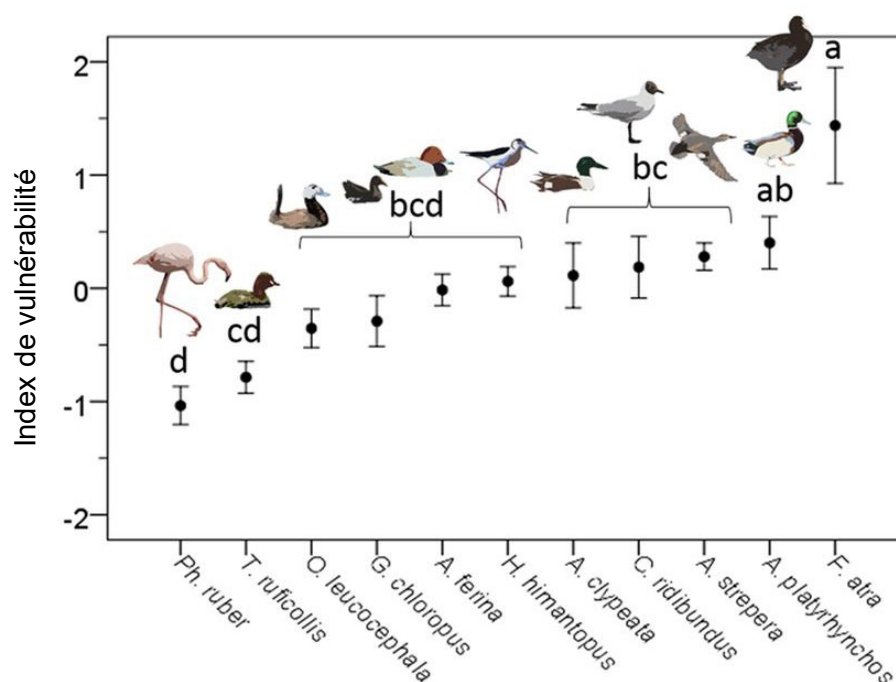


Figure 7. Comparaison de l'index de vulnérabilité (moyenne +/- erreur standard) au botulisme d'espèces d'oiseaux d'eau au cours d'épisodes sur le lac Nebraska en Espagne en 2011 et 2012 (Source : Anza et al. (2016)).

3.3.4.5. Schéma récapitulatif émission / exposition / amplification

Un schéma synthétisant les mécanismes conduisant à l'exposition des oiseaux à *C. botulinum* dans un plan d'eau (Figure 8) est proposé ci-après ; il reprend les éléments décrits précédemment.

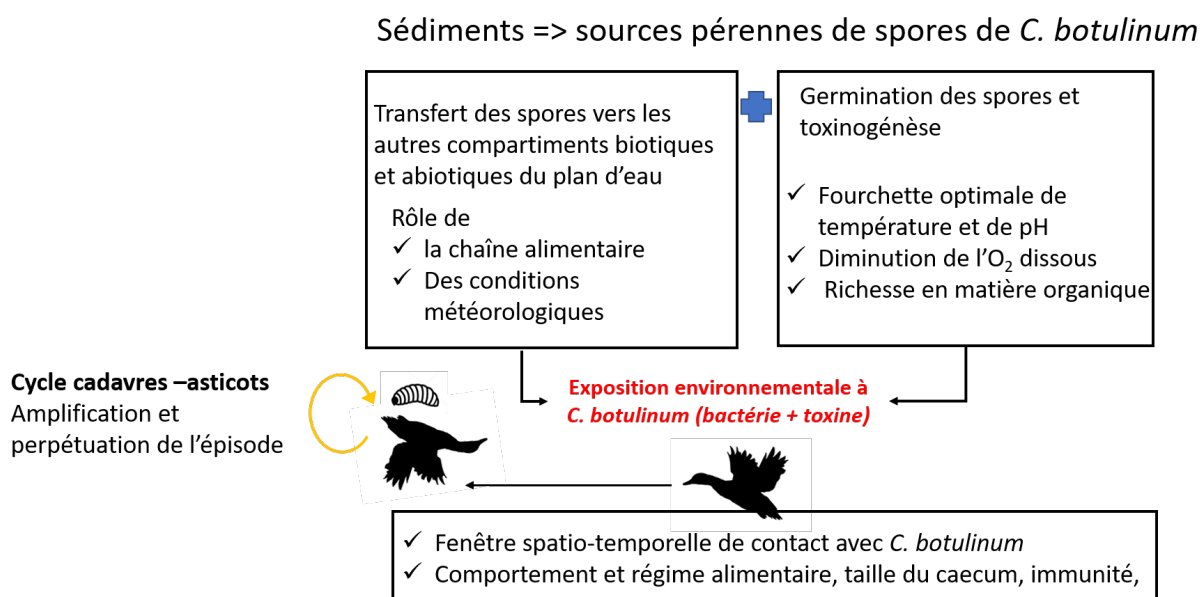


Figure 8. Schéma récapitulatif émission / exposition / amplification.

La croissance de *C. botulinum* dans les écosystèmes lenticques est influencée par divers facteurs et processus tels que : l'eutrophisation et ses conséquences sur la production de matière organique dans les étangs, les apports allochtones en matière organique, la dégradation de cette matière organique et ses conséquences sur les concentrations en oxygène dissous et les conditions météorologiques et leurs conséquences sur la température de l'eau, le brassage des sédiments, etc. Les épisodes de botulisme pourraient être également influencés par des espèces invasives, telles que la carpe et l'écrevisse de Louisiane, qui contribuent à la bioturbation (réarrangement physique des sédiments par le mouvement d'organismes vivants) et probablement à la remobilisation des spores. Les oiseaux sont exposés à la bactérie en fonction de leur comportement et régime alimentaires et de la taille de leurs *cæca*.

En France, entre 2009 et 2019, une vingtaine de cas de botulisme aviaire ont été confirmés chaque année, affectant principalement des canards colverts. Ces chiffres sous-estiment probablement le nombre de foyers, du fait de l'absence régulière de demande de confirmation. L'analyse des données du réseau SAGIR (2014-2023) montre une répartition géographique des cas sur tout le territoire, avec une concentration dans le nord-ouest, bien que la surveillance opportuniste par le réseau ne garantisse pas une couverture uniforme homogène sur tout le territoire. Les épisodes de botulisme aviaire sont principalement liés au sous-type C/D. Le type E a été détecté lors d'épisode de mortalité, principalement de manière concomitante avec le sous-type C/D. Le type E a toutefois été détecté une fois de manière isolée, lors d'un épisode de mortalité d'oiseaux à l'été 2023 sur un site qui n'avait pas fait l'objet de rapport d'analyse de cas de botulisme auparavant. Par ailleurs, la recherche de *C. botulinum* dans l'environnement des étangs avec un historique de botulisme de sous-type C/D montre la présence à la fois de *C. botulinum* de sous-type C/D et de type E. L'ensemble des résultats soulève la question de l'identification des facteurs environnementaux ou autres qui conditionnent les épisodes de botulisme aviaire de type E.

4.Évaluation des risques pour la santé humaine

Une mortalité groupée ou massive d'oiseaux sauvages observée notamment en saison chaude dans une zone humide, un étang ou un lac par exemple, peut révéler le développement d'un épisode de botulisme aviaire.

Les questions 1 et 2 de la saisine portent sur les risques pour la santé humaine qui peuvent en découler, d'une part pour les personnes fréquentant ces sites, en particulier celles pratiquant la pêche (sans consommation), la chasse ou d'autres activités de loisir, et d'autre part pour les personnes consommant des poissons pêchés ou du gibier chassé sur le site.

Comme cela a été mentionné dans la partie précédente du rapport, la toxine C/D est très majoritairement incriminée dans les cas de botulisme répertoriés dans l'avifaune sauvage en France, notamment chez les anatidés où elle représente 96 % des cas identifiés. Les autres toxines produites par des *C. botulinum* du groupe III (C, D, et D/C) sont en revanche très rarement en cause. Les analyses effectuées dans les eaux et sédiments des plans d'eau marqués par le développement d'épisodes de botulisme y révèlent essentiellement la présence de *C. botulinum* C/D. *C. botulinum* de type E est aussi régulièrement détecté dans ces mêmes sites, alors que les épisodes aviaires de botulisme E y sont rares.

La coexistence des toxinotypes C/D et E dans les sites étudiés a conduit les experts à évaluer, pour les personnes exposées, les risques en rapport avec le développement d'un épisode de botulisme, soit C/D, soit E, dans l'avifaune sauvage, étant entendu que l'atteinte des oiseaux est la conséquence visible de la croissance de l'agent pathogène présent dans le milieu et de la contamination des chaînes trophiques qui caractérisent les écosystèmes concernés : zones humides et plans d'eau.

Avant de détailler les étapes et les résultats de l'évaluation du risque pour les personnes exposées, il convient néanmoins :

- de préciser que l'exercice ne prend pas en compte la probabilité d'émergence d'un épisode botulique C/D ou E dans un site donné (en l'occurrence un plan d'eau douce continental), mais concerne tous sites dans lesquels l'observation d'une mortalité d'oiseaux peut correspondre à un épisode de botulisme C/D ou E ;
- de rappeler que contrairement au type E, reconnu comme la troisième cause de botulisme alimentaire dans le monde, les cas de botulisme humain liés aux types C, D et mosaïques sont rarissimes, possiblement liés à la faible sensibilité de l'être humain à ces toxines ;
- de souligner que les rares cas recensés de botulisme humain associés aux toxines produites par des souches de *C. botulinum* de groupe III (identifiées pour la plupart comme de type C) relèvent essentiellement d'observations antérieures aux années 2000, où le diagnostic, fondé sur la caractérisation de la toxine dans le sérum des malades par le test de séroneutralisation sur souris, ne permettait pas d'identifier les sous-types mosaïques C/D ou D/C. L'incertitude qui en découle s'applique également aux données relatives à la recherche de l'agent pathogène dans l'environnement et chez les animaux, souvent les seules disponibles, issues de sources bibliographiques antérieures à cette période. Pour pallier l'absence de données spécifiques au toxinotype C/D, les experts ont donc considéré que les connaissances relatives au toxinotype C obtenues à une époque où les sous-types mosaïques n'étaient pas identifiables, pouvaient être transposées au sous-type C/D sans risque d'erreur important ;

- de rappeler qu'aucun cas de botulisme humain causé par les toxines C/D ou E n'a jamais été détecté jusqu'ici sur le territoire français dans le contexte évoqué dans la présente saisine.

4.1. Description de la méthode d'évaluation

L'évaluation vise à qualifier le risque de voir survenir des cas de botulisme chez des humains éventuellement exposés à partir d'un site où se développe un épisode de botulisme C/D ou E chez des oiseaux sauvages et/ou des poissons.

Le développement du botulisme dans un environnement naturel contaminé résulte d'interactions complexes entre de nombreux facteurs biotiques et abiotiques (voir § 3.3.4.4) qui permettent le transfert direct ou indirect de la toxine (cause de la maladie) vers les organismes sensibles, incluant des humains exposés.

Face à cette complexité, à laquelle il faut ajouter le manque de données quantitatives, l'évaluation de ce risque est abordée de façon qualitative et les résultats correspondent à des avis rendus collectivement et consensuellement par les experts du GT sur la base des données disponibles (publications ou rapports).

Pour conduire cette évaluation, les experts ont, successivement :

- (i) précisé le danger à prendre en compte ;
- (ii) élaboré un schéma événementiel résumant les voies de cheminement du danger (caractérisation) depuis l'environnement contaminé jusqu'aux populations cibles ;
- (iii) procédé à l'évaluation de la probabilité de présence du danger dans les sources prises en considération : en raison du manque de données quantitatives et de l'hétérogénéité des données qualitatives disponibles relatives à la présence du danger dans les différents substrats étudiés, et pour être homogène avec la méthode utilisée dans des rapports antérieurs (Anses 2021c; 2022a), les experts ont réparti les probabilités de présence du danger en trois niveaux, identifiés « - », « + » et « ++ ». Le niveau « - » ne signifie pas l'absence totale de danger dans le substrat étudié, mais traduit des résultats d'analyse le plus souvent négatifs ou à la limite du seuil de sensibilité de la technique employée pour le caractériser. En cas de variabilité très importante des situations, les plages de niveaux attribués peuvent être étendues et notées « - à + », « - à ++ » ou « + à ++ ».

Ces niveaux sont associés, en fonction des données disponibles, à un niveau d'incertitude qualifié de « faible », « moyen », « élevé » ou « absence de données » selon les critères d'attribution des indices d'incertitude adaptés à partir d'une grille élaborée et utilisée à l'Anses dans le cadre de précédents travaux (Tableau 7).

- (iv) déterminé les situations les plus à risque auxquelles pouvaient être exposés les humains (populations cibles) ;
- (v) évalué dans ces situations les probabilités de survenue du botulisme dans le cas d'une exposition sur site ou résultant de la préparation des poissons ou des gibiers issus de ce site. Le GT a évalué qualitativement ces probabilités de survenue en fonction de la probabilité de présence du danger dans les matrices auxquelles elles sont exposées, de la porte d'entrée du danger (qui conditionne la forme de botulisme éventuellement contractée), de la prise en compte des conditions et mesures propres à maîtriser le danger. Ces évaluations sont globales et fondées sur les avis des experts du GT.

Dans le cas de la consommation des aliments issus des prises à la chasse ou la pêche, le GT a considéré ne pas pouvoir évaluer la probabilité de survenue de botulisme alimentaire en raison du manque de données quantitatives sur la contamination initiale des matières premières (prises de chasse ou de pêche), ainsi que sur les pratiques de conservation et de consommation de ces matières premières par les chasseurs et pêcheurs. Le GT a toutefois évalué l'effet de certains modes de transformation et de conservation des aliments sur l'évolution de *C. botulinum* afin de déterminer les conditions et les mesures nécessaires pour maîtriser le danger et donc le risque.

Tableau 7. Critères d'attribution des qualificatifs utilisés pour caractériser les incertitudes.

Qualification de l'incertitude	Critères d'attribution
Faible	Le niveau attribué est fondé sur des résultats convergents d'études scientifiques ou sur un système de collecte de données de fiabilité reconnue.
Moyen	Le niveau attribué est fondé-sur un nombre limité d'études scientifiques ou sur un système de collecte de données de fiabilité limitée ET la présence de convergences entre auteurs et/ou experts.
Élevé	Le niveau attribué est fondé sur : - un nombre limité d'études scientifiques ou sur un système de collecte de données de fiabilité limitée ET l'absence de consensus entre auteurs et/ou experts ; - ou sur un avis individuel d'expert en l'absence d'études scientifiques ou de système de collecte de données.
Absence de données	Aucun niveau n'est attribué du fait de l'absence totale de données et d'avis d'expert.

4.2. Caractérisation du danger

Le danger est représenté par les toxines botuliques et/ou les spores et/ou les formes végétatives de *C. botulinum* de sous-type C/D ou de type E.

Le fait de se focaliser sur les toxinotypes C/D et E appelle trois remarques :

- (i) les toxines C/D et E sont produites par des groupes bactériens, respectivement *C. botulinum* de groupe III et II, aux propriétés distinctes (températures de croissance, etc.), mais elles se différencient surtout par leur degré de toxicité pour les humains. Ces différences rendent nécessaires une évaluation de risque spécifique, d'une part pour C/D et d'autre part pour E ;
- (ii) la maladie est la conséquence, soit d'une intoxication, soit d'une toxi-infection. La forme majoritairement décrite chez les humains du botulisme alimentaire est l'intoxication c'est-à-dire l'ingestion de toxine préformée⁵⁹. Le botulisme alimentaire

⁵⁹ La toxine peut être présente dans les tissus d'un animal destiné à la consommation (avant son abattage), ou, cas le plus fréquent, elle peut être produite secondairement dans l'aliment par la bactérie (présente initialement dans la matière première ou introduite lors de la préparation de l'aliment) lorsque des conditions de préparation et/ou de conservation inappropriées sont propices à la germination des spores, la multiplication des formes végétatives et la production de toxine.

représente la forme habituelle du botulisme de type E chez les humains. Quelques rares cas de botulisme humain alimentaire de type C (en incluant la souche présentée comme un nouveau variant du type C décrit par Maeda et al. (2023)) ont été aussi rapportés.

La toxi-infection résulte de l'introduction de spores et/ou de formes végétatives, suivie d'une infection et de la production de toxines dans l'organisme : elle est décrite dans le botulisme infectieux de l'adulte, le botulisme infantile et le botulisme par blessure. Il est important de rappeler toutefois la rareté des cas référencés où les dangers ciblés dans la présente évaluation ont été caractérisés : il s'agit de deux cas de botulisme infantile, le premier au Japon dû à *C. botulinum* type C (Oguma et al. 1990) et le second aux États-Unis dû à *C. botulinum* type E (Lúquez et al. 2010), et d'un cas de botulisme par blessure identifié en Suède dû à *C. botulinum* type E (Artin et al. 2007).

Le danger à considérer dans les substrats constituant les sources de contamination n'est donc pas uniquement la toxine mais aussi les spores et formes végétatives de *C. botulinum* ;

- (iii) la quasi-absence de données quantitatives (en termes de présence du danger par exemple) utilisables pour l'évaluation de risque. En effet, les investigations menées tant dans l'environnement que chez les espèces animales sensibles reposent principalement sur des méthodes de PCR qualitative permettant de détecter le gène codant la toxine et donc de déterminer directement le toxinotype. Le plus souvent, il n'est pas précisé dans les publications si les bactéries caractérisées dans l'échantillon sont des formes végétatives ou sporulées, sauf lorsque l'échantillon est chauffé avant mise en culture, auquel cas les résultats portent seulement sur la détection des spores. C'est la raison pour laquelle spores et formes végétatives ne sont pas individualisées dans l'évaluation. Il est important de signaler enfin la rareté des investigations portant sur la détection de la toxine dans les échantillons analysés. Les experts ne disposent donc, dans la plupart des études, que de données relatives à la fréquence de détection du danger (souvent limitées à une détection des spores) dans les échantillons analysés.

De plus, les experts du GT soulignent la quasi-absence de données toxicologiques documentant les quantités minimales de toxines suffisantes pour permettre le développement du botulisme chez l'humain contaminé par les différents toxinotypes considérés et en fonction des voies d'exposition.

Ce manque de données justifie le choix par les experts d'une évaluation qualitative de risque, avec cependant la possibilité, comme l'ont fait certains auteurs, d'extrapoler les doses toxiques à partir de celles déterminées chez des primates non humains tels que des singes Rhésus, où les doses létales par voie orale des toxines E et C ont été estimées respectivement à 1 500 – 2 500 MLD / kg et 100 000 - 250 000 MLD / kg. Dans le cas de la toxine E, la DL₅₀ par voie orale est 10 fois plus élevée que celle déterminée par voie sous-cutanée (150 à 200 MLD par kg) (Dolman et Murakami 1961; Yule, Austin, et al. 2006).

4.3. Schéma événementiel

Afin de faciliter leur analyse, les experts ont élaboré un schéma événementiel (Figure 9) présentant les voies de cheminement du danger (spore, bactérie ou toxine) depuis l'environnement contaminé jusqu'aux humains exposés au danger dans la zone où une mortalité d'oiseaux traduit la présence de la maladie dans la faune sauvage, ainsi que les différentes situations susceptibles de conduire au développement de cas de botulisme chez ces personnes.

Comme précédemment justifié (cf. partie 2 du rapport), le schéma proposé a comme point de départ un plan d'eau reconnu contaminé. Ce plan d'eau représente ici un écosystème lentique, aux eaux calmes à renouvellement lent, étang ou lac (voir § 2.1).

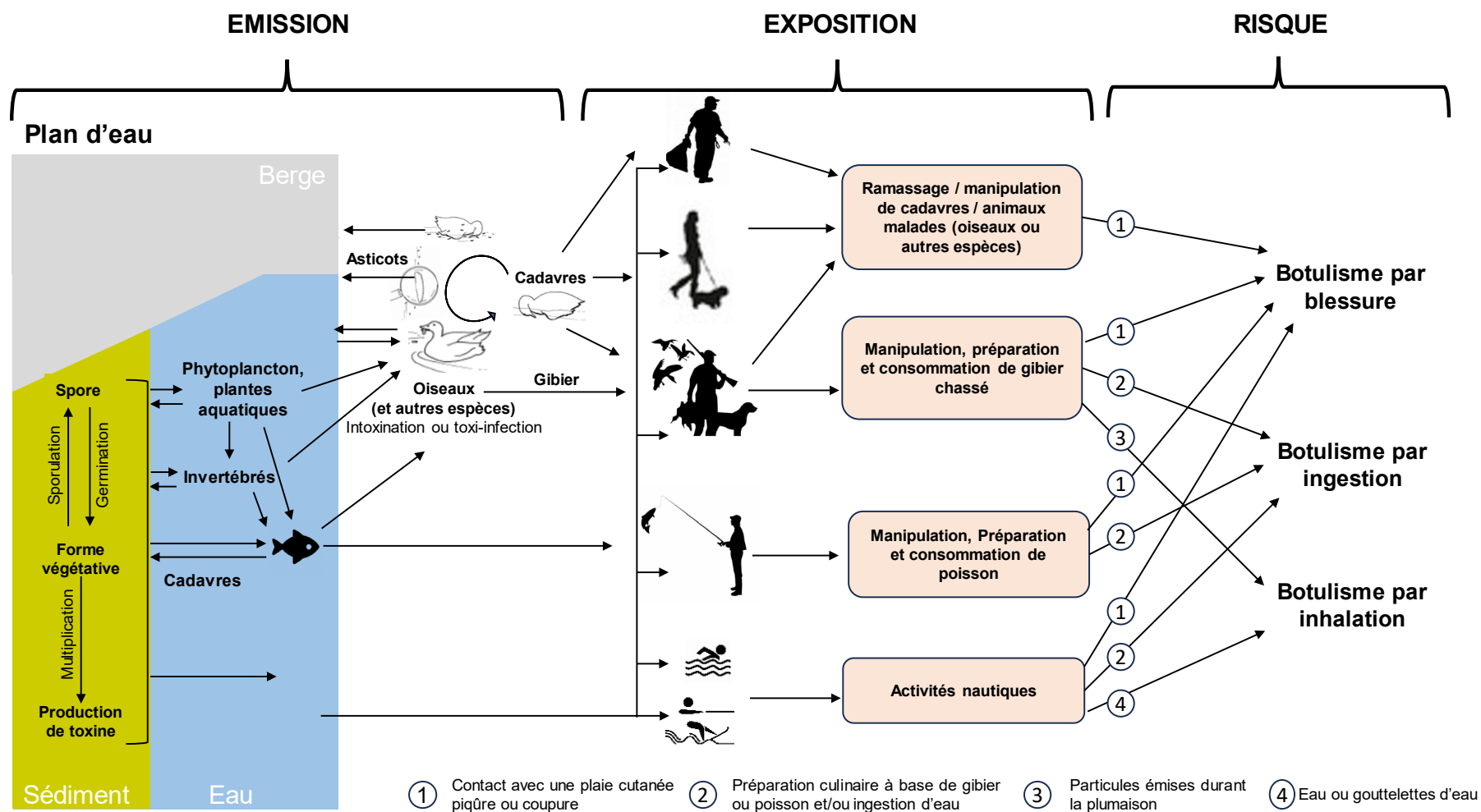


Figure 9. Schéma événementiel des sources de contamination, des voies de circulation de *C. botulinum* et des situations pouvant conduire, sur un plan d'eau reconnu contaminé, au développement de cas de botulisme humain.

Les flèches représentent les voies de cheminement possibles du danger (spore, forme végétative ou toxine) au sein et depuis l'environnement contaminé jusqu'aux humains exposés (sans quantification du poids de ces voies dans la contamination).

4.4. Identification des sources de contamination et évaluation des probabilités de présence du danger

4.4.1. Éléments pris en compte et limites de l'évaluation des probabilités de présence du danger

Les sources de contamination des humains dans les écosystèmes sont multiples. Le schéma événementiel présente les différents substrats et organismes (sédiment, eau, végétaux aquatiques, invertébrés, poissons, oiseaux, etc.) susceptibles de véhiculer le danger précédemment défini.

En raison de la quasi-absence de données quantitatives relatives à la présence du danger dans l'environnement (voir § 4.2) et pour exprimer la variabilité des situations, les probabilités de présence ont été réparties en trois niveaux, exprimés par « - » « + » ou « ++ » (voir § 4.1). Ces niveaux sont principalement attribués en fonction des données de fréquence de détection du danger publiées lors d'investigations sur sa présence dans les matrices prises en compte, et rarement en fonction des concentrations présentes (généralement non déterminées). Elles expriment donc le plus souvent la probabilité de présence sans prendre en compte une dose infectieuse ou toxique constituant un risque pour des humains exposés. Il convient de rappeler en outre que le niveau le plus faible « - » ne signifie pas l'absence de danger dans le substrat étudié, mais traduit des résultats d'analyse le plus souvent négatifs ou à la limite du seuil de sensibilité de la technique employée pour le caractériser.

4.4.2. Probabilités de présence du danger dans les différentes sources de contamination

Pour répondre strictement aux questions de la saisine, le GT a procédé à l'évaluation de la probabilité de présence du danger dans les sédiments, l'eau, les poissons, les oiseaux (gibier notamment) et leurs cadavres, dans un contexte d'épisode botulique de sous-type C/D ou de type E se traduisant par une mortalité d'oiseaux observée sur le site.

Pour chacune de ces sources, trois niveaux (« - », « + » ou « ++ ») ont été établis séparément pour qualifier la probabilité de présence de la bactérie (spores ou formes végétatives) et de la toxine et pour chaque toxinotype étudié. Les experts ont en outre distingué chez les poissons et les oiseaux deux états, celui des poissons et oiseaux ne présentant aucun signe cliniques (mais possiblement porteurs asymptomatiques ou en incubation) et celui des poissons ou oiseaux atteints de botulisme (avec des signes cliniques).

Le Tableau 8 offre une vision synoptique des niveaux (« - », « + » ou « ++ ») attribués et des incertitudes relatives à cette notation. Les explications relatives à ces niveaux sont présentées après ce tableau.

Tableau 8. Évaluation qualitative des probabilités de présence de *C. botulinum* C/D et E (bactérie* et toxine) dans les matrices considérées dans les sources potentielles de contamination pour les humains.

Source d'émission du danger		Danger (toxintype)		Probabilité** de présence du danger	Références bibliographiques	Indice d'incertitudes
Sédiments	C/D	Bactérie		- à ++	Projet AMI botulisme faune sauvage (cf. § 3.3.4.2)	faible
		Toxine		- à +	Le Dréan-Quenec'hdu, Marion, et Popoff (2005)	moyen
	E	Bactérie		- à ++	Zechmeister et al. (2005)	faible
		Toxine		- à +	Bott et al. (1966) Hannett et al.(2011)	moyen
Eau	C/D	Bactérie		- à +	Projet AMI botulisme faune sauvage (cf. § 3.3.4.2)	faible
		Toxine		-		faible
	E	Bactérie		- à +	Pas d'étude disponible (niveaux attribués par analogie avec les données de <i>C. botulinum</i> C/D)	élevé
		Toxine		-		élevé
Poissons sans signes cliniques, éventuellement porteurs	Peau, écailles et branchies	Bactérie		- à +	Pas d'étude disponible (niveaux attribués par analogie avec les données propres au botulisme de type E)	moyen
		Toxine		-		moyen
	Tube digestif et viscères	Bactérie		- à ++		moyen
		Toxine		-		moyen
	Muscle	Bactérie		-		moyen
		Toxine		-		moyen
	Peau, écailles et branchies	Bactérie		- à +	Hjelm, Björkroth, et al. (1998)	faible
		Toxine		-	Hyytiä, Hjelm, et Korkeala (1998)	faible
	Tube digestif et viscères	Bactérie		- à ++	Sugiyama, Bott, et Foster (1970)	faible
		Toxine		-	Cann et Taylor (1982) Eklund et al. (1982; 1984) Getchell et al. (2006)	faible
	Muscle	Bactérie		-	Eklund et al. (1982; 1984) Cann et Taylor (1982)	faible
		Toxine		-	Yule, Austin et al. (2006)	faible

Source d'émission du danger		Danger (toxinotype)	Probabilité** de présence du danger	Références bibliographiques	Indice d'incertitudes	
Poissons avec signes cliniques	Peau, écailles et branchies	C/D	Situation non envisagée du fait de la rareté des signalements de botulisme C/D chez les poissons, expliquée par leur faible sensibilité aux toxines correspondantes			
	Contenu digestif et viscères					
	Muscle					
	Peau, écailles et branchies	E	Bactérie	- à +	Hielm, Björkroth, et al. (1998)	faible
			Toxine	-	Hyytiä, Hielm, et Korkeala (1998)	faible
	Contenu digestif et viscères		Bactérie	+ à ++	Eklund et al. (1982; 1984) Cann et Taylor (1982)	faible
			Toxine	+ à ++	Hannett et al.(2011)	faible
	Muscle		Bactérie	-	Getchell et al. (2006)	faible
Toxine			- à +	Yule, Lepage et al. (2006)	faible	
Cadavres de poissons		C/D	Bactérie	++	Pas d'étude disponible (niveaux attribués par analogie avec les données propres au botulisme de type E)	moyen
			Toxine	++		moyen
		E	Bactérie	++	Monheimer (1968)	faible
			Toxine	++	Cann et Taylor (1982)	faible
Oiseaux sans signes cliniques, éventuellement porteurs	Peau et phanères	C/D	Bactérie	- à +	Pas d'étude disponible	moyen
			Toxine	-	Pas d'étude disponible	moyen
	Tube digestif		Bactérie	+	Meloni et al. (2023) Anza et al. (2016) Zechmeister et al. (2005) Reed et Rocke (1992)	faible
			Toxine	-	Pas d'étude disponible	moyen
	Foie		Bactérie	-	Meloni et al. (2023)	faible
			Toxine	-	Pas d'étude disponible	moyen
	Muscle et sang		Bactérie	-	Meloni et al. (2023)	faible
			Toxine	-	Pas d'étude disponible	moyen
	Peau et phanères	E	Bactérie	- à +	Pas d'étude disponible	moyen
			Toxine	-	Pas d'étude disponible	moyen
	Tube digestif		Bactérie	+	Pas d'étude disponible	moyen
			Toxine	-	Pas d'étude disponible	moyen
	Foie		Bactérie	-	Pas d'étude disponible	moyen
			Toxine	-	Pas d'étude disponible	moyen
Muscle et sang	Bactérie		-	Pas d'étude disponible	moyen	
	Toxine		-	Pas d'étude disponible	moyen	

Source d'émission du danger		Danger (toxinotype)		Probabilité** de présence du danger	Références bibliographiques	Indice d'incertitudes
Oiseaux avec signes cliniques	Peau et phanères	C/D	Bactérie	- à +	Pas d'étude disponible	moyen
			Toxine	-	Pas d'étude disponible	moyen
	Tube digestif		Bactérie	++	Le Maréchal et al. (2016)	faible
			Toxine	++	Jensen (1981) Masters et Palmer (2021)	faible
	Foie		Bactérie	++	Le Maréchal et al. (2016)	faible
			Toxine	+	Tevell Åberg, Karlsson, et Hedeland (2021)	faible
	Muscle et sang		Bactérie	-	Pas d'étude disponible	moyen
			Toxine	+	Pas d'étude disponible	moyen
	Peau et phanères	E	Bactérie	- à +	Pas d'étude disponible	moyen
			Toxine	-	Pas d'étude disponible	moyen
	Tube digestif		Bactérie	++	Hannett et al.(2011)	faible
			Toxine	++	Hannett et al.(2011)	faible
	Foie		Bactérie	++	Hannett et al.(2011)	faible
			Toxine	+	Hannett et al.(2011)	faible
	Muscle et sang		Bactérie	-	Pas d'étude disponible	moyen
			Toxine	+	Hannett et al.(2011)	faible
Cadavres d'oiseaux		C/D	Bactérie	++	Vidal et al. (2011)	faible
			Toxine	++	Smith, Turner, et Till (1988)	faible
		E	Bactérie	++	Hannett et al. (2011)	faible
			Toxine	++	Piazza et al. (2011) Chipault et al. (2015)	faible

* Spores ou formes végétatives.

** Les probabilité peuvent être exprimées sous forme d'intervalle pour représenter la variabilité des situations étudiées.

4.4.2.1. Sédiments

Les sédiments peuvent être considérés comme une source de contamination des humains éventuellement exposés dans le cadre de travaux sur site (curage d'un étang par exemple). Les données utilisées⁶⁰ pour cette évaluation correspondent aux résultats des investigations

⁶⁰ Sont exclues, pour cette évaluation, les données issues d'investigations réalisées autrefois en pisciculture (bassins d'élevages de saumons ou de truites atteints de botulisme de type E) où les conditions de développement de la maladie sont différentes de celles observées dans les plans d'eau étudiés ici. Eklund et al. (1984) dénombrent, par exemple durant un épisode de botulisme E, 4 600 à

menées dans des étangs et lacs (eau douce)⁶¹ situés sur le territoire français (cf. § 3.3.4.2), qui montrent la présence de spores de *C. botulinum* C/D dans la quasi-totalité des échantillons de sédiments issus des sites étudiés (notamment lors d'épisodes de botulisme C/D affectant l'avifaune sauvage), et souvent la présence simultanée de spores de *C. botulinum* E. Il faut aussi souligner, pour un même plan d'eau, une distribution hétérogène de la fréquence de détection, dans le temps et selon les secteurs où sont prélevés les échantillons analysés. Ainsi, les secteurs les plus fréquemment trouvés positifs correspondent notamment à des zones marquées par une mortalité de l'avifaune plus importante ou à des zones de repos ou de gagnage de certains oiseaux (Le Dréan-Quenec'hdu, Marion, et Popoff 2005)⁶². Pour des raisons de contraintes analytiques et des objectifs posés, ces études ont été limitées à la détection des spores (par PCR qualitative), mais les experts considèrent également comme fortement probable la présence de formes végétatives dans ces matrices. Des investigations effectuées dans les Grands Lacs américains montrent que la fréquence de *C. botulinum* E dans les sédiments est très variable selon le site et la période de l'année, et peut atteindre 60 % (Bott et al. 1966) à 88 % (Hannett et al. 2011) (cf. § 3.3.4.2).

Le niveau « - à ++ » a été attribué pour qualifier les probabilités de présence de *C. botulinum* de sous-type C/D et de type E dans les sédiments.

La toxine botulique est, en revanche, difficilement détectable directement dans les échantillons analysés, que ce soit en utilisant le test de neutralisation sur souris ou par ELISA. C'est ce que montre par exemple l'étude de sédiments d'un lac autrichien de Zechmeister et al. (2005) dans laquelle la toxine C n'a pu être mise en évidence (la limite de détection étant estimée à 5 MLD par mL de sédiment) alors que 74 % des échantillons révélaient la présence de spores par PCR. De tels résultats n'excluent donc pas la présence de toxine.

Le niveau « - à + » a donc été attribué pour les probabilités de présence des toxines C/D et E dans les sédiments.

4.4.2.2. Eau

L'eau peut véhiculer des spores, des formes végétatives et des toxines issues du sédiment, des végétaux aquatiques ou excrétées par des organismes contaminés (invertébrés, poissons, oiseaux par exemple) ou émises par leurs cadavres. Cependant, ces éléments ne sont pas présents de façon homogène sur tout le volume et la superficie du plan d'eau : leur distribution est influencée par de nombreux facteurs comme le site de prélèvement, la hauteur d'eau (facteur de dilution), le vent et les mouvements de l'eau, la végétation, la fréquentation des oiseaux, la présence de cadavres, la teneur en matière organique, etc.

46 000 spores par gramme de sédiment accumulé au fond d'un bassin d'élevage entre 3,5 et 10 cm de profondeur et 28 000 à 150 000 spores à 1,5 cm de profondeur.

⁶¹ Sont exclues également, pour cette évaluation, les données publiées relatives à la contamination par *C. botulinum* E des sédiments en mer Baltique (Hielm, Hyytiä, et al. 1998).

⁶² Rapports relatifs à un suivi du lac de Grand Lieu, dans lesquels des spores (type C ou D) ont été détectées dans des échantillons de sédiments prélevés à 5 cm de profondeur dans des sites répartis sur l'ensemble du lac, en 2001 dans 18 sites sur 102 (17,6 %) et en 2004, durant un épisode botulique, dans 11 sites sur 36 (32,3 %).

Dans l'étude portant sur la recherche de *C. botulinum* dans des étangs français avec historique de botulisme (cf. § 3.3.4.2), la fréquence de détection des spores C/D est plus faible dans l'eau que dans les sédiments lors d'un épisode C/D, et celle des spores de type E y est inférieure à celle des spores de sous-type C/D.

Le niveau « - à + » a donc été attribué pour qualifier la probabilité de présence de *C. botulinum* de sous-type C/D dans l'eau. En l'absence de données concernant la présence de *C. botulinum* dans l'eau lors d'un épisode E, le niveau « - à + » a aussi été attribué pour qualifier la probabilité de présence de *C. botulinum* de type E dans l'eau, par analogie avec les données disponibles lors d'un épisode C/D.

Peu d'études font état de la recherche directe de la toxine dans l'eau d'étangs contaminés (Hubálek et Halouzka 1991). Toujours dans l'étude portant sur la recherche de *C. botulinum* dans des étangs français avec historique de botulisme (cf. § 3.3.4.2), la recherche des toxines par test de séroneutralisation sur souris menée par le CNR est régulièrement négative, ce qui n'exclut pas sa présence, détectée dans un cas (toxine C/D) à partir de végétaux prélevés près de la surface. Un des inconvénients du test sur souris est le faible volume (0,5 mL) injectable par voie intrapéritonéale à chaque souris, un test négatif ne permettant pas de distinguer l'absence de toxine ou une quantité inférieure à 2 MLD / mL. Mais, même si des concentrations plus élevées peuvent être retrouvées, Hubálek et Halouzka (1991) ont détecté par exemple 8 MLD / mL de toxine C dans un échantillon d'eau collecté à 1 m du cadavre d'un cygne mort de botulisme), elles restent en général très faibles et difficiles à caractériser. En fait, même si la toxine est libérée dans le milieu, elle est très fortement diluée dans le milieu aquatique expliquant les résultats obtenus.

Le niveau attribué pour qualifier les probabilités de présence des toxines C/D et E dans l'eau est donc « - ».

4.4.2.3. Poissons et leurs cadavres

Les données utilisées pour évaluer le rôle des poissons en tant que sources de contamination pour les humains découlent d'observations effectuées en Amérique du Nord (Bott et al. 1966; Yule, Barker, et al. 2006; Getchell et al. 2006) ou en Europe du Nord (Hielm, Björkroth, et al. 1998; Hyytiä, Hielm, et Korkeala 1998). Toutes ces études, qui portent quasi-exclusivement sur *C. botulinum* type E et sa toxine, montrent que le taux de contamination des poissons (hors développement du botulisme) est lié à celui de leur environnement (et réciproquement).

L'évaluation de la probabilité de présence du danger a été effectuée en tenant compte du statut des poissons vis-à-vis de la maladie (indemnes tout en étant éventuellement porteurs ou atteints de botulisme E, qu'ils soient en incubation ou malades). Le danger (bactérie ou toxine) peut être présent sur les téguments, dans le contenu digestif et les tissus consommables des poissons pêchés.

La présence de spores de type E sur les téguments, nageoires et branchies a été démontrée, hors contexte d'épisode de botulisme, sur des poissons d'élevages (truites) ou sauvages (corégones, lottes, harengs de la Baltique, etc.) issus d'environnement d'eau douce ou marins contaminés, en Finlande (Hielm, Björkroth, et al. 1998; Hyytiä, Hielm, et Korkeala 1998). La proportion d'échantillons positifs et la charge bactérienne varient selon l'étude et les espèces

étudiées (par exemple, 20 % des échantillons⁶³ positifs chez les truites d'élevage avec une charge moyenne estimée à 110 spores / kg [minimum 30 - maximum 580], 18 % des échantillons positifs chez des corégones *Coregonus lavaretus*, avec une charge moyenne estimée à 380 spores / kg [50 - 2730] dans l'étude de Hyytiä, Hielm, et Korkeala (1998). Le GT considère que ces valeurs peuvent refléter la contamination du milieu, notamment de l'eau.

Les niveaux « - à + » pour la bactérie et « - » pour la toxine, attribués aux probabilités de présence de sous-types C/D et de type E dans l'eau sont donc identiques pour les téguments, nageoires et branchies, que le poisson présente ou non des signes cliniques de botulisme.

Le GT établit d'après la littérature scientifique que la présence du danger dans le tube digestif, lors d'un portage chez des poissons en bonne santé, est la conséquence d'un simple transit (Sugiyama, Bott, et Foster 1970; Cann et Taylor 1982; Eklund et al. 1984). La présence du danger dans le tube digestif reflète comme précédemment la présence du danger dans l'eau, sauf éventuellement pour des poissons vivant sur ou près du fond (donc à l'interface eau-sédiment) chez lesquels le portage digestif peut être plus élevé du fait par exemple d'un comportement fouisseur (en filtrant les sédiments qu'il met en suspension) ou de leur régime alimentaire (consommation importante d'invertébrés contaminés par exemple). Le taux de portage digestif, de même que la quantité de spores détectée est variable selon l'espèce (type d'alimentation, poisson de fond ou de surface, etc.) et le lieu de l'étude. Dans l'étude de Hyytiä, Hielm, et Korkeala (1998) précédemment citée, la présence de *C. botulinum* de type E a été détectée dans 15 % des échantillons d'intestins issus de truites d'élevage avec une charge moyenne estimée à 240 spores [30 - 1 900] par kg (intestins et leur contenu). Le taux de portage intestinal est généralement plus faible chez les poissons sauvages d'eau douce, par exemple 9 % dans l'étude de Hyytiä, Hielm, et Korkeala (1998) en Finlande, moins de 1 % à 3 % dans une étude de Sugiyama, Bott, et Foster (1970) dans les Grands Lacs américains sur la période 1960 à 1963, avec l'exception du lac Michigan où la proportion de poissons positifs atteignait 12 % et même 56 % dans certains sites. En revanche, nonobstant la possibilité d'un portage en dessous du seuil de détection des méthodes utilisées pour leur recherche, il n'est pas habituel de détecter des formes végétatives dans le tractus digestif des poissons sains (Getchell et al. 2006). Il en est de même pour la toxine (Cann et Taylor 1982).

Les niveaux « - à ++ » et « - » ont donc été respectivement attribués pour les probabilités de présence de la bactérie et de la toxine quel que soit le toxinotype en cause dans le tube digestif (en l'absence de signe clinique). En l'absence d'études démontrant la présence de la bactérie et de sa toxine dans le muscle des poissons sains, le niveau attribué pour la probabilité de présence dans le muscle de ces poissons est « - » (spores, formes végétatives et toxine).

Considérant la faible sensibilité des poissons aux toxines C, D et mosaïques C/D et D/C (par exemple, la DL₅₀ *per os* pour la carpe commune a été estimée à 27 500 MLD par kg pour la toxine C contre 236 MLD par kg pour la toxine E (Haagsma 1975)), le risque de développement du botulisme dans un contexte d'épisode botulique dû à ces toxines est très faible, et cette éventualité, bien que parfois décrite (Nol et al. 2004), n'est pas abordée par le GT⁶⁴.

⁶³ Échantillons analysés contenant la peau, les branchies, les nageoires et le péritoine des poissons collectés.

⁶⁴ Si un tel cas se présentait, les niveaux correspondraient à ceux attribués au toxinotype E.

En revanche, les poissons sont sensibles à la toxine E (avec des variations selon les espèces), et certaines espèces peuvent développer un botulisme clinique avec mortalité. *C. botulinum* E et la toxine E sont retrouvés dans le contenu digestif d'une proportion élevée de poissons malades ou moribonds. Cette proportion peut être particulièrement forte lors d'épisodes de botulisme E en pisciculture, durant lesquels il est possible de dénombrer 75 à 110 000 bactéries et 2 à 600 (voire parfois 2 000) MLD de toxine E par gramme de contenu digestif chez les truites et saumons malades (Eklund et al. 1982; 1984; Cann et Taylor 1982). Ces données montrent qu'une toxi-infection résultant d'une colonisation bactérienne intestinale et d'une production de toxine *in vivo* peut être fréquente, justifiant :

l'attribution du niveau « + à ++ » pour la probabilité de présence de la bactérie et de la toxine de type E dans le contenu digestif de poissons malades ou moribonds.

Comme en témoigne parfois la détection de la bactérie dans le foie, la rate ou les reins de poissons moribonds ou récemment morts dans la région des Grands Lacs (Getchell et al. 2006), le franchissement de la barrière digestive des spores et/ou formes végétatives est possible (Getchell et al. 2006). Toutefois, il n'y a pas des données rapportées dans le muscle.

Aussi le niveau « - » est attribué pour la probabilité de présence de la bactérie de type E dans le muscle des poissons malades.

Les signes cliniques observés résultent de la diffusion de la toxine E par voie sanguine dans l'organisme pour atteindre les jonctions neuromusculaires. Sa détection dans le sang et par voie de conséquence dans les filets des poissons malades est cependant rendue difficile car sa concentration se situe souvent en limite de détectabilité. C'est ce qui est notamment décrit sur des poissons dans les Grands Lacs américains, par exemple les gobies (Yule, LePage, et al. 2006), alors que la masse viscérale peut s'avérer positive (Yule, Austin, et al. 2006). Eklund et al. (1982) indiquent que lorsque les intestins des poissons (saumons d'élevage) contiennent plus de 100 MLD par mL, il est fréquent de détecter plus de 20 MLD de toxine par gramme de muscle.

Le niveau « - à + » est donc attribué pour caractériser la probabilité de présence de toxine E dans le muscle des poissons atteints de botulisme E.

Le cadavre en décomposition des poissons, que la mort soit due au botulisme ou à une autre cause, est un milieu qui peut s'avérer propice à la germination des spores présentes dans le tractus digestif et la production de toxine. Des concentrations de toxine E parfois importantes peuvent y être quantifiées, par exemple 10 000 MLD / g de tissus dans des cadavres décomposés de truites d'élevage prélevés dans une pisciculture atteinte de botulisme E (Cann et Taylor 1982) et 500 à 4 000 MLD / g dans des cadavres de gaspareaux *Alosa pseudoharengus* en décomposition collectés lors d'un épisode de botulisme E sur le rivage ou dans le lac Michigan (Monheimer 1968).

Le niveau attribué pour les probabilités de présence de la bactérie et de la toxine, quel qu'en soit le type, est « ++ » pour toutes les parties du cadavre de poisson.

4.4.2.4. Oiseaux et leurs cadavres

Les données présentées dans ce paragraphe portent uniquement sur les résultats (généralement qualitatifs) de travaux permettant de déterminer dans quelles parties du corps de l'oiseau la bactérie ou sa toxine peuvent être détectables, qu'il s'agisse d'un contexte de suspicion de botulisme C/D ou de botulisme E. Elles ne tiennent pas compte des différences de fréquence de survenue des cas de botulisme de type E (très peu de cas identifiés) et C/D (la majorité des foyers identifiés) dans l'avifaune sauvage en France (Le Bouquin et al. 2022).

L'évaluation de la probabilité de présence du danger a porté successivement sur (i) des oiseaux ne présentant pas de signes cliniques (oiseaux d'eau chassés par exemple) mais potentiellement porteurs du danger, (ii) des oiseaux atteints de botulisme C/D ou de botulisme de type E, (iii) et leurs cadavres. La probabilité de présence est envisagée sur les téguments, dans le contenu digestif et les tissus consommables des oiseaux chassés.

Aucune étude référencée ne porte sur la détection du danger sur les plumes, pattes et têtes des oiseaux, que ce soit pendant ou en dehors d'un épisode. Le GT considère néanmoins que la présence du danger sur le corps d'un oiseau reflète celle de son environnement, notamment, s'agissant d'oiseaux d'eau, c'est-à-dire de l'eau des sites contaminés où ils résident.

Les niveaux « - à + » pour la bactérie et « - » pour la toxine, attribués aux probabilités de présence de sous-type C/D et de type E dans l'eau sont donc identiques pour les plumes, pattes et têtes, que l'oiseau présente ou non des signes cliniques de botulisme.

L'évaluation de la probabilité de présence du danger portant sur le contenu intestinal et les tissus consommables des oiseaux chassés s'appuie sur quelques études ayant porté sur la détection du danger à partir d'oiseaux sans signe clinique apparent, mais capturés ou chassés sur le site d'un plan d'eau dans un contexte d'épisode de botulisme.

Dans une étude récente en France portant sur 29 anatidés chassés sur un plan d'eau dans un contexte d'épisode de botulisme de sous-type C/D, la présence de spores a été détectée dans six *cæca* (5 C/D et 1 E), un gésier (C/D) et un muscle (E) (cinq matrices analysées par oiseau ; absence de détection dans le contenu intestinal et le foie) (Meloni et al. 2023). Dans cette étude, la fréquence de détection la plus élevée [13,5 - 35,5 %] est obtenue dans les *cæca*. Dans une étude réalisée en 1973 sur 41 canards colvert en Hollande, Haagsma, avait rapporté la présence de spores de type C dans 21 *cæca* (51 %) (Haagsma 1973). Anza et al. (2016) en Espagne détectaient la présence des spores dans 16,2 % de échantillons fécaux provenant de 152 oiseaux sauvages sans signe clinique mais capturés durant des épisodes de botulisme C/D.

Ces données justifient le niveau « + » attribué à la probabilité de présence de la bactérie de sous-type C/D dans le tube digestif de ces oiseaux lors d'un épisode de sous-type C/D. En l'absence de données disponibles lors d'un épisode de type E, et par analogie avec le botulisme C/D, le niveau « + » est également valable pour la probabilité de présence de *C. botulinum* de type E. En revanche, c'est le niveau « - » qui est attribué pour les probabilités de présence de la toxine (C/D ou E) dans le tube digestif de ces oiseaux, aucune donnée ne permettant d'attester la présence de toxine à des titres détectables. Le niveau attribué pour les probabilités de présence des spores et toxine dans les organes et les muscles est « - ».

Chez des oiseaux atteints cliniquement de botulisme C/D ou E, toxine et bactérie sont assez régulièrement détectées dans leur tractus digestif (jabot, gésier, contenu intestinal, contenu cæcal). Le contenu intestinal est ainsi un des prélèvements utilisés pour confirmer le diagnostic de botulisme établi sur la base des signes cliniques, que ce soit pour la détection de la toxine ou de la bactérie.

Un niveau « ++ » est donc attribué pour les probabilités de présence de la bactérie et de la toxine de sous-type C/D et de type E dans le contenu digestif d'oiseaux atteints de botulisme.

C. botulinum peut être aussi détecté dans différents organes chez les oiseaux atteints de botulisme (foie, rate, rein) et dans la bile. Le foie est d'ailleurs recommandé comme prélèvement pour le diagnostic du botulisme aviaire (Le Maréchal et al. 2016). Le foie est aussi utilisé pour mettre en évidence la toxine (Tevell Åberg, Karlsson, et Hedeland 2021; Pigatto et al. 2007).

Sur la base de ces éléments, les niveaux « ++ » et « + » sont respectivement attribués pour les probabilités de présence de la bactérie et de la toxine de sous-type C/D et de type E dans les organes (foie, rate, rein) d'oiseaux atteints de botulisme.

Il y a peu de données concernant la détection de la toxine ou de la bactérie dans les muscles chez les oiseaux sauvages présentant des signes cliniques (Hannett et al. 2011). Il est possible cependant de considérer que la probabilité de présence de toxine dans ces tissus dépend de celle du sang où la toxine peut être recherchée dans le cadre du diagnostic avec un taux de détection pouvant atteindre 77 % (Le Maréchal et al. 2016).

Un niveau « + » est attribué pour les probabilités de présence de la toxine de sous-type C/D et de type E dans le sang et le muscle d'oiseaux atteints de botulisme. En revanche, le botulisme n'étant pas considéré comme s'accompagnant d'une bactériémie, le GT attribue le niveau « - » pour les probabilités de présence de la bactérie de sous-type C/D et de type E dans le sang comme dans le muscle des oiseaux atteints.

Les cadavres, qu'il s'agisse d'oiseaux morts de botulisme ou d'oiseaux porteurs de spores dans leur tube digestif mais morts de toute autre cause, constituent, notamment lorsqu'ils sont en état de décomposition, un substrat favorable à la germination des spores de *C. botulinum*, à la croissance de la bactérie et à la production de toxine lorsque les conditions de température sont appropriées. Ils jouent un rôle important dans le développement des épisodes de botulisme C/D dans l'avifaune sauvage par le cycle cadavre / asticot. Les concentrations de toxines dans les tissus en décomposition peuvent y être importantes pouvant atteindre 250 000 MLD de toxine C par gramme (Smart et al. 1987), par exemple dans un cadavre de poulet en décomposition. C'est aussi le cas dans les asticots qui s'y développent, dans lesquels les concentrations peuvent atteindre 10^5 à 10^6 MLD par gramme⁶⁵ (Hubálek et Halouzka 1991).

Le niveau attribué aux probabilités de présence de *C. botulinum* de sous-type C/D et leur toxine dans les cadavres d'oiseaux, qu'ils soient morts de botulisme ou non, est « ++ ». Par analogie, le même niveau est attribué pour la probabilité de présence dans des cadavres

⁶⁵ Un gramme correspond, selon les auteurs à une quarantaine d'asticots. Selon Leyo et al. (2021), le poids d'un asticot de *Musca domestica* varie de 0,03 à 0,06 g.

d'oiseaux lors d'un épisode le type E, bien que le rôle des cadavres ne soit pas documenté pour ce toxinotype.

4.5. Évaluation des probabilités de survenue de botulisme humain

Comme représenté dans le schéma événementiel (Figure 9), les humains peuvent être exposés, soit lors de leurs activités sur le site du plan d'eau contaminé, soit lors de la préparation et de la consommation de poisson ou de gibier d'eau provenant de ce site.

Partant du principe que, dans le contexte de la saisine, le site est contaminé, le présent chapitre ne vise pas à évaluer à proprement parler une probabilité d'exposition au danger, mais à déterminer les situations les plus à risque permettant d'envisager une contamination susceptible de conduire à un cas de botulisme chez les individus exposés aux sources d'émission du danger précédemment identifiées. La probabilité de survenue de cas humains en rapport avec les activités humaines sur le site est ensuite évaluée qualitativement, en tenant compte des mesures préventives idéalement appliquées.

S'agissant de l'exposition par voie alimentaire, comme indiqué précédemment (§ 4.1), les possibilités de contamination, de croissance et de toxinogenèse de *C. botulinum* sont évaluées au cours de la préparation de différents types de produits (produit cru à cuire, produit cuit/appertisé, produit cru salé, séché et/ou fumé). Ceci afin d'illustrer l'impact des différents procédés de transformation, d'identifier les situations à risque d'exposition élevé et les mesures de maîtrise associées.

Les probabilités de survenue de botulisme en rapport avec les activités humaines sur le site et l'analyse de l'exposition par voie alimentaire sont successivement présentées dans ce chapitre après avoir rappelé l'influence de la porte d'entrée de l'agent pathogène (voies de contamination) dans le botulisme humain.

4.5.1. Voies de contamination chez les humains exposés

Trois voies de contamination sont décrites dans le botulisme humain, par ordre décroissant de fréquence la voie digestive, la voie cutanée et la voie respiratoire. Toutes sont envisageables dans le contexte d'exposition présentement étudié.

4.5.1.1. Voie digestive

Ce mode de contamination suppose l'ingestion volontaire ou accidentelle d'un substrat contenant des toxines et /ou bactéries botuliques.

Les experts du GT écartent d'emblée le risque en lien avec l'ingestion de spores de *C. botulinum* des types ou sous-types considérés dans la présente analyse. Certes, l'ingestion de spores est connue comme étant la cause du botulisme infantile (décrit chez des enfants âgés de moins d'un an) et du botulisme infectieux de l'adulte. Il s'agit en fait d'événements rares, décrits seulement chez des humains affectés de facteurs prédisposants (cf. § 3.2). De plus les enfants âgés de moins d'un an ne sont pas exposés à la consommation de poisson d'eau douce ou de gibier.

Seul est donc évalué ici le risque en lien avec l'ingestion de toxine (en quantité suffisante en fonction du toxinotype), responsable du botulisme alimentaire, forme la plus fréquente et

habituelle du botulisme humain. Elle peut être consécutive à la consommation d'un aliment contaminé (initialement ou suite au processus de transformation et de conservation), préparé ici à partir d'un gibier, principalement un oiseau chassé sur le site, ou d'un poisson pêché dans le plan d'eau. Une ingestion accidentelle de toxine est aussi envisageable chez des personnes avalant de l'eau, en se baignant ou chutant dans un plan d'eau contaminé.

La question d'une ingestion accidentelle se pose aussi chez des personnes portant leurs mains à la bouche après avoir manipulé un substrat contaminé (sédiment, eau, viandes ou poissons crus...), un animal porteur ou malade, ou un cadavre d'animal. Le GT estime cependant que ce mode de contamination ne devrait pas conduire à l'ingestion de doses de toxines suffisantes pour déclencher un cas de botulisme, en raison du type toxinique, et/ou de la quantité ingérée de toxine. Ainsi, ce risque est écarté de la présente analyse.

4.5.1.2. Voie cutanée

La toxine, les spores ou les formes végétatives de *C. botulinum* n'ayant pas la capacité de traverser la barrière cutanée, l'éventualité d'une contamination par contact avec la peau saine (absence de lésion) n'est pas retenue.

Dans le cas du simple contact d'un substrat ou produit contaminé avec une plaie préexistante non protégée (pansement, port de gants), les conditions aérobies en surface de la plaie ne sont pas compatibles avec la germination des spores ou une croissance des formes végétatives éventuellement présentes. Si une contamination par la toxine est possible, sa faible stabilité au contact de l'air (Arnon et al. 2001) et une concentration considérée majoritairement faible (notamment dans l'eau) rendent improbable la survenue de cas de botulisme dans ces circonstances.

L'inoculation de spores de *C. botulinum* lors d'une blessure (botulisme par blessure) est donc le mode de contamination cutanée qui reste envisageable. Il est cependant nécessaire, dans ce cas, que la blessure contaminée soit suffisamment profonde pour créer des conditions d'anaérobiose pour permettre la germination des spores de *C. botulinum* et la production de toxine (situation rencontrée notamment lorsque des corps étrangers ou de la terre sont également introduits dans la plaie). La blessure s'accompagne habituellement d'une infection des tissus mous entraînant des abcès au point d'inoculation ou associée à une cellulite. Les symptômes de botulisme apparaissent 4 à 14 jours après la blessure (Merson et Dowell 1973), toutefois des cas de latence plus importante avant l'apparition des premiers signes de botulisme sont parfois observés (Elrayes et al. 2024). Le botulisme par blessure relève majoritairement d'une contamination par *C. botulinum* de types A ou B. L'exemple d'un cas de botulisme E précédemment rapporté chez une toxicomane en Suède (Artin et al. 2007) suggère néanmoins une possibilité de contamination si des spores (voire des formes végétatives) des types ou sous-types de *C. botulinum* considérés dans la saisine sont inoculés dans une plaie.

L'inoculation de toxine E ou C/D dans le cas des blessures précédemment évoquées est également possible et un effet toxique est envisageable dans ces conditions, y compris, si on se réfère aux tests d'inoculation et essais thérapeutiques de toxine C sur des volontaires et des patients (Eleopra et al. 1997), pour la toxine C/D. Les experts estiment cependant que les faibles quantités de toxine E ou C/D susceptibles d'être introduites dans une plaie à la suite d'une blessure ne sont pas suffisantes pour occasionner le botulisme.

4.5.1.3. Voie respiratoire

Comme déjà indiqué, les signalements de cas de botulisme par inhalation sont exceptionnels. La survenue de botulisme à la suite de l'inhalation de toxine n'a été observée que dans quelques rares cas de contamination chez du personnel de laboratoire exposé à des aérosols de toxine botulique de type A concentrée durant des opérations de centrifugation (Holzer 1962). La description de quelques cas d'infection, notamment par des *C. botulinum* de type B, par inhalation volontaire de cocaïne, indique cependant la possibilité pour la bactérie de s'implanter dans le rhinopharynx et de produire la toxine, mais de telles observations n'ont jamais été rapportées avec les toxinotypes étudiés ici. L'inhalation de spores des *C. botulinum* de type A ou B est d'ailleurs incriminée comme une voie possible de contamination dans le botulisme infantile (forme du botulisme non prise en compte ici).

L'éventualité d'une contamination respiratoire peut être envisagée ici en cas d'inhalation de gouttelettes d'eau contaminée, lors de baignade et d'activités nautiques ou bien en cas d'inhalation de poussières contaminées (souillures fécales...) lors de la plumaïson (généralement manuelle) de gibiers d'eau (en rappelant que le duvet, notamment de canard, est très volatile). La résorption de toxine lors de contact direct de l'eau avec les muqueuses nasales est aussi théoriquement possible en cas de baignade.

Compte tenu du caractère exceptionnel de cette forme de botulisme qui nécessite l'inhalation d'une quantité importante de toxines, le risque lié à la contamination respiratoire est exclu de la présente expertise.

En conclusion, les situations les plus à risque retenues pour l'expertise sont : la consommation d'un aliment contaminé par la toxine (risque de botulisme alimentaire), l'ingestion d'eau contenant éventuellement la toxine lors de baignades et toute blessure profonde associée à l'inoculation de spores (risque de botulisme par blessure).

4.5.2. Probabilité de survenue de botulisme humain associé aux activités sur le site du plan d'eau contaminé

Pour rappel, dans le contexte de la saisine, les activités envisagées sont menées sur le site d'un plan d'eau douce contaminé dans lequel un épisode de botulisme de sous-type C/D ou de type E est suspecté (découverte de cadavres d'oiseaux) ou avéré (diagnostic établi avec identification du toxinotype de *C. botulinum*).

Les activités ciblées dans la saisine sont la pêche, la chasse, les promenades le long des plans d'eau et les activités nautiques (nage par exemple), auxquelles est ajoutée la collecte de cadavres sur le site contaminé par des personnes habilitées.

4.5.2.1. Activités de pêche

4.5.2.1.1. Pratiques de pêche et modalités d'exposition

Tous les types de pêche (cf. § 2.2.1.1) exposent à la manipulation de poissons vivants, certaines (notamment la pêche de sauvetage) à la manipulation potentielle de cadavres, avec une probabilité variable de contact avec une plaie cutanée (blessures liées à une activité extérieure) ou de blessure possible en lien avec la manipulation d'engins de pêche (cas

notamment de la pêche de sauvetage) ou la prise en main ou le décrochage du poisson par le pêcheur. Dans ce dernier cas, le risque de blessure concerne surtout la pêche (en poste fixe ou itinérante) aux poissons carnassiers de grande taille, et notamment de l'espèce brochet commun : en effet la manipulation de ces poissons, en vue du décrochage, implique de fréquentes blessures (au niveau des mains) par contact accidentel avec les dents ; ces blessures restent cependant la plupart du temps superficielles (1 - 2 mm).

Les interventions de pêche de sauvetage de poissons (situations d'urgence), de plus en plus pratiquées dans un contexte de réchauffement climatique (épisodes d'étiage plus sévères et fréquents qui peuvent aussi être favorables au développement de *C. botulinum*), sont souvent réalisées avec peu de moyens et un recours à des bénévoles généralement peu sensibilisés aux aspects sanitaires. En outre, ces interventions impliquent la manipulation de nombreux poissons, de toutes espèces et d'états sanitaires variés.

L'exposition à des matrices souillées non piscicoles (eaux, sédiments, végétaux) dépend de l'approche halieutique choisie (à poste fixe ou itinérante), du positionnement (pêche sur berge, dans l'eau ou sur l'eau depuis une embarcation). Dans les pêches itinérantes (pêches des carnassiers aux leurres), et contrairement aux pêches effectuées à poste fixe, le fait d'entrer dans l'eau implique naturellement une probabilité majorée de contact avec ces matrices. Les pêches de gestion (pisciculture et sauvetage) impliquent quant à elles, des contacts potentiellement importants avec les sédiments ou de l'eau dans laquelle les sédiments ont été remobilisés.

En fait, tous les types de pêche exposent *a minima* à un contact manuel avec les poissons pêchés et avec l'eau. Les autres parties du corps peuvent être aussi exposées à un contact avec l'eau (voire les sédiments) dans le cas où le pêcheur entre dans l'eau sans protection vestimentaire adaptée ou en cas de chute accidentelle, laquelle peut en outre être la cause de blessures.

4.5.2.1.2. Probabilité de survenue de botulisme associé à la pêche

Sauf dans certaines conditions (pêche de sauvetage ou vidange d'étang), les poissons pêchés sont considérés par le GT comme des poissons sans signe apparent de botulisme. Il est cependant possible que ces poissons véhiculent dans leur mucus cutané des toxines, spores ou formes végétatives de *C. botulinum* des types présents dans le milieu (eau, ou sédiment pour certains poissons de fond) d'où une possibilité de contamination pour le pêcheur les saisissant au sortir de l'eau. Le pêcheur est aussi exposé à un contact direct, le plus souvent manuel, avec l'eau éventuellement contaminée. Lorsqu'il pénètre dans l'eau (cas des pêches itinérantes des carnassiers aux leurres), le recours fréquent à des vêtements imperméables (cuissardes, *waders*, etc.) permet au pêcheur (sauf chute accidentelle) d'éviter un contact de l'eau avec d'autres parties du corps.

Les blessures survenant en cours de pêche sont la plupart du temps superficielles, qu'elles soient directement liées à la manipulation de poisson ou en lien avec la manipulation des matériels de pêche. Ces blessures *a priori* plutôt superficielles n'entraînent donc pas de conditions d'anaérobiose favorables à la germination des spores de *C. botulinum* et à la production de toxine.

La situation la plus à risque retenue par les experts lors des activités de pêche est celle d'un cas de blessure cutanée suffisamment profonde (permettant de créer des conditions d'anaérobiose) associée à l'inoculation du danger.

Tout en rappelant le caractère accidentel de cette situation, les experts estiment peu probable la survenue de cas de botulisme de sous-type C/D ou de type E à la suite d'une blessure se produisant lors d'activités de pêche.

Les experts soulignent qu'au cours d'un épisode de botulisme, les pêcheurs doivent être particulièrement prudents dans les manipulations engendrant le plus souvent les blessures et d'éviter de se rincer les mains dans l'eau de l'étang après une capture de poisson. Par ailleurs, en cas de blessure profonde lors des activités de pêche, un lavage soigneux de la plaie à l'eau potable et sa désinfection, lorsque la plaie le permet, contribueront à limiter le risque de développement de *C. botulinum in situ*. De plus, le port systématique de gants et de tenues de protection chez les personnes plus exposées, comme celles intervenant dans la pêche de sauvetage, permettra de prévenir ce risque.

4.5.2.2. Activités de chasse

4.5.2.2.1. *Pratiques de chasse et modalités d'exposition*

Les pratiques de chasse impliquent à la fois, à des degrés divers, des manipulations d'oiseaux sauvages, morts ou vivants, chassés ou collectés. La participation du chasseur au ramassage des cadavres est abordée au § 4.5.2.4.

Lors de la chasse au gibier d'eau, le chasseur est exposé à un contact manuel avec l'oiseau tiré, qu'il ramasse mort ou blessé au sol ou qui est ramené par son chien, et indirectement à des matrices environnementales en fonction de l'endroit où le corps de l'oiseau est récupéré (berge, surface du plan d'eau, vasière, etc.). Le degré de contamination des téguments de l'oiseau peut être influencé par l'endroit où il chute et le délai qui s'écoule entre le moment où il est tué et celui où il est ramassé. Ce délai varie en effet de quelques minutes (lors de chasse à la passée par exemple), à plusieurs heures en cas de chasse commerciale lorsque les oiseaux tirés sont ramassés en fin de séance⁶⁶. Un contact avec les matrices environnementales souillées (eaux, sédiments, végétaux) est aussi possible lors de la pose ou du retrait des canards appelants et du nourrissage des oiseaux détenus en volières sur un étang. Le chasseur s'expose également lorsqu'il touche ses bottes ou le pelage souillé de son chien. Une chute dans l'eau contaminée est aussi possible lorsque le chasseur chasse en bateau.

Dans le cas où le gibier est chassé en vue d'une consommation familiale et subit une phase de préparation (éviscération, découpe), le chasseur est aussi exposé à un contact manuel avec les viscères de l'oiseau (cf. § 4.5.4).

4.5.2.2.2. *Probabilité de survenue de botulisme associé à la chasse*

Les oiseaux chassés sont considérés par le GT comme des oiseaux sans signe apparent de botulisme. Il est cependant possible (données non disponibles dans la littérature) que ces oiseaux véhiculent sur leurs téguments des toxines, spores ou formes végétatives de *C. botulinum* des types issus du milieu (eau ou sédiment) dans lequel ils évoluaient ou dans lequel leur cadavre a été récupéré quand ils ont été tirés par le chasseur (cf. § 4.4.2.4). Le

⁶⁶ Globalement, ce délai est estimé de 5 à 20 minutes lors de chasse à la passée, de quelques minutes à 45 minutes pour les chasses à l'abri et de quelques dizaines de minutes à trois heures lors de chasses commerciales.

chasseur est donc principalement exposé à un contact cutané avec le danger en saisissant l'oiseau tué.

La probabilité d'un contact avec une plaie cutanée (notamment au niveau des mains) sera variable et majoritairement en lien avec une activité extra-cynégétique. Les blessures survenant en cours de chasse sont la plupart du temps superficielles et ne permettent pas de créer des conditions favorables à la germination des spores de *C. botulinum* et à la production de toxine

La situation la plus à risque correspondrait à un cas de blessure cutanée profonde associée à l'inoculation du danger dans la plaie. Tout en rappelant le caractère accidentel de cette situation, les experts estiment peu probable la survenue de cas de botulisme de sous-type C/D ou de type E à la suite d'une blessure se produisant lors des activités de chasse ou en cas de manipulation d'appelants, qui peuvent être exposés de la même façon que les autres oiseaux en contact avec l'environnement.

Il est à noter que l'équipement recommandé lors de la chasse au gibier d'eau, comporte des bottes en caoutchouc, cuissardes, vêtements imperméables et gants, permet de limiter le contact avec les matrices environnementales éventuellement contaminées. D'autre part, le lavage soigneux de la plaie et sa désinfection, le plus tôt possible, contribueront à limiter le risque de développement de *C. botulinum in situ*.

4.5.2.3. Activités de loisir (autres que la chasse et la pêche) et éducatives

Les lacs et étangs ouverts au public représentent des lieux de visite et de loisir prisés par le public (Garcia, Choffel, et Nasser 2020). Les activités de loisir se répartissent en promenades, randonnées et visites, baignades et sports d'eau douce (sports sur un plan d'eau).

Le degré d'exposition du public dans un site propice au développement d'épisodes de botulisme varie selon le type d'activité.

4.5.2.3.1. *Promenades et activités éducatives : modalités d'exposition et probabilité de survenue de botulisme.*

La seule situation considérée à risque par les experts dans le cadre de promenades et activités éducatives survient si les promeneurs se blessent lorsque, en ignorant les recommandations habituelles de prudence, ils touchent ou ramassent des oiseaux moribonds ou des cadavres qu'ils découvrent sur leur parcours.

Considérant le caractère généralement superficiel des blessures attendues dans ce contexte, les experts estiment peu probable la survenue de cas de botulisme de sous-type C/D ou de type E.

Il faut rappeler ici que, dans le cadre de la surveillance de l'influenza aviaire hautement pathogène, la conduite à tenir en cas de découverte d'oiseaux morts fait l'objet d'information à destination du grand public⁶⁷. L'attitude attendue étant dans un premier temps de ne jamais les toucher, de noter le lieu de la découverte et de contacter les interlocuteurs du réseau d'épidémiosurveillance SAGIR au service départemental (SD) de l'OFB ou la fédération départementale des chasseurs (FDC) du département et/ou de prévenir la DDPP. Ce sont les agents des SD de l'OFB et des FDC qui recueillent alors les signalements et assurent ensuite

⁶⁷ <https://www.ofb.gouv.fr/ce-quit-faut-savoir-sur-linfluenza-aviaire>

la collecte éventuelle, en respectant les mesures de biosécurité (port d'équipements de protection individuelle adaptés), et le transfert des oiseaux trouvés morts susceptibles d'être analysés dans le cadre du réseau SAGIR.

4.5.2.3.2. Baignades et activités nautiques : modalités d'exposition et probabilité de survenue de botulisme.

En pratique, les baignades et activités nautiques sont limitées à certains sites (lacs, étangs) et soumises à autorisation. Ces activités sont en outre limitées à des zones dédiées, souvent équipées dans ce but, dont le niveau d'eau se prête aux activités autorisées et généralement éloignées des zones les plus à risque (roselières, zones fréquentées par les oiseaux sauvages, etc.).

Baignades

La baignade implique un contact prolongé (contact cutané et/ou muqueux) avec l'eau, et l'eau peut être aussi ingérée ou inhalée. Cependant, la survenue de botulisme par voie cutanée n'est pas envisageable en cas du respect des règles d'hygiène classiques, impliquant notamment de ne pas se baigner en cas de blessures majeures et de prendre une douche en sortie de baignade. De même, la survenue de botulisme par voie respiratoire, qui nécessite l'inhalation d'une quantité importante de toxines n'est pas envisageable lors des baignades (cf. § 4.5.1.3).

La situation la plus à risque retenue par les experts lors des baignades est le cas d'ingestion de toxines présentes dans l'eau.

Comme précédemment indiqué (cf. § 4.4.2.2), les quelques données quantitatives disponibles quant à la présence de toxine C/D ou E dans l'eau des sites contaminés suggèrent des concentrations faibles, limitées au plus à quelques MLD par mL d'eau. En outre, pour les toxinotypes considérés, une contamination digestive supposerait d'avaler une grande quantité d'eau pour atteindre un seuil toxique⁶⁸ pour les humains. Or, les volumes d'eau ingérés lors d'une activité de baignade en eau douce sont estimés à 50 mL pour les enfants de moins de six ans, 30 mL pour les enfants de 7 à 14 ans, 18 mL pour les enfants de 15 à 17 ans et 7 mL pour les adultes (Anses 2020a). Ainsi les experts estiment peu probable la survenue de cas de botulisme de sous-type C/D ou de type E à la suite de baignades. Même si des quantités d'eau plus importantes peuvent être ingérées ou inhalées lors des parcours aqualudiques composés de jeux gonflables sur eau, leur positionnement habituel dans des zones où la hauteur d'eau est suffisante et en dehors des sites d'alimentation et de repos des oiseaux limite le risque d'une concentration détectable de toxine et ne remet pas en question le raisonnement précédent.

Activités nautiques

La situation la plus à risque retenue par les experts lors activités nautiques est le cas d'ingestion de toxines présentes dans l'eau.

⁶⁸ Les quantités minimales de toxine nécessaires pour le développement du botulisme chez l'humain contaminé par les toxinotypes C/D ou E ne sont pas connues. Chez des primates non humains tels que des singes Rhésus, les doses létales par voie orale des toxines E et C ont été estimées respectivement à 1 500 – 2 500 MLD / kg et 100 000 - 250 000 MLD / kg.

Les activités nautiques sur un plan d'eau peuvent être distinguées en deux groupes au regard du risque de botulisme humain. Les pratiques nécessitant une immersion régulière comme le ski nautique, la plongée présentent la même probabilité de survenue de botulisme que lors de la baignade (peu probable). Pour les pratiques utilisant un moyen nautique engendrant un contact encore plus limité avec l'eau (pédalo, canoé, kayak, plaisance), elles peuvent être considérées comme présentant un risque nul.

Rappelant qu'aucun signalement n'a rapporté le cas d'une contamination humaine associée à des baignades et activités nautiques, la dégradation perceptible de la qualité du plan d'eau doit amener une réflexion du gestionnaire et/ou des pouvoirs publics sur l'opportunité d'un maintien, d'une restriction voire d'une interdiction momentanée de ces activités sur le site.

4.5.2.4. Ramassage des cadavres : modalités d'exposition et probabilités de survenue de botulisme

La collecte de cadavres à des fins diagnostiques dans le cadre de la surveillance des mortalités anormales d'oiseaux sauvages et leur ramassage systématique (avant destruction) dans le but de prévenir ou enrayer le développement d'un épisode botulique dans l'avifaune (cf. chapitre 5) exposent à un risque de contamination des agents qui en sont chargés. La collecte de cadavres de poissons, de ragondins ou d'autres mammifères semi-aquatiques peut aussi présenter un risque de contamination.

L'exposition découle de la manipulation des cadavres, en particulier lorsqu'ils sont en décomposition (niveau « ++ » attribué pour la probabilité de présence du danger). Les cadavres, lorsqu'ils sont récupérés flottant ou gisant sur la vase, sont en outre souillés en surface par l'eau ou les sédiments contaminés.

La situation la plus à risque retenue par les experts lors du ramassage des cadavres est le cas de blessure cutanée profonde associée à l'inoculation du danger (bactérie notamment) dans la plaie.

En dépit d'une probabilité de présence potentiellement élevée dans les cadavres (quel que soit le toxinotype en cause) (Tableau 8), les experts estiment peu probable la survenue de botulisme de sous-type C/D ou de type E chez les personnels chargés de la collecte des cadavres d'oiseaux ou des poissons ou de mammifères.

Le risque est réduit si l'intervenant respecte les consignes pour la protection individuelle normalement données aux personnes missionnées pour assurer la collecte des animaux sauvages morts (largement diffusées dans le cadre de la surveillance de l'influenza aviaire). De même, dans le cas du risque botulique, les experts insistent sur le port de protections vestimentaires (gants étanches, combinaison et bottes) et le respect des règles d'hygiène classiques telles que se laver systématiquement les mains après contact avec les animaux, l'eau ou les sédiments, ne pas boire, manger ou fumer, traiter (laver, savonner et rincer à l'eau potable) et protéger les plaies (recouvrir d'un pansement imperméable). La manipulation sécurisée (outils pour ramasser les oiseaux) peut-être aussi indiquée, en particulier pour éviter tout contact direct avec les cadavres en décomposition.

4.5.3. Probabilité de survenue de botulisme humain associé à la préparation et à la consommation de poisson d'eau douce

La présente analyse est ciblée sur la consommation des poissons d'eau douce pêchés dans le cadre d'une activité de loisir (cf. § 2.2.1) dans des plans d'eau comme des étangs et lacs où surviennent parfois ou régulièrement des épisodes de botulisme confirmés.

4.5.3.1. Habitudes de consommation des poissons d'eau douce

Seules les pêches de pisciculture et récréatives impliquent potentiellement la consommation du poisson pêché. Cette consommation n'est pas systématique. Les tendances actuelles de pratiques de graciage du poisson pêché, et donc de non-consommation alimentaire des poissons pêchés, sont de plus en plus répandues, et même quasi généralisées pour certaines espèces (pêche de la carpe).

Les types de consommateurs diffèrent selon les pêches considérées : l'interdiction de vente des produits de la pêche récréative implique que la consommation de ces poissons pêchés concerne principalement les pêcheurs amateurs et leur entourage proche. Les poissons issus de pisciculture d'étang peuvent être consommés par le pêcheur-pisciculteur ou tout particulier venant acheter le poisson lors de la pêche d'étang ou chez le pisciculteur.

Il est recommandé⁶⁹ d'éviscérer (vidage) et de nettoyer le plus tôt possible (généralement dans les 2 heures qui suivent la session de pêche) les prises pour maintenir la qualité et la fraîcheur de la chair des poissons et de les conserver au réfrigérateur avant de les cuisiner ou les transformer (fumage, salage, etc.). Beaucoup sont également congelés pendant quelques semaines après avoir été vidés.

De nombreuses recettes sont utilisables pour cuisiner les poissons d'eau douce : friture pour les petits poissons blancs, ou pour des poissons plus gros (carpe, brochet commun, sandre, etc.), poisson entier au four, poisson au court bouillon, filets pochés, poêlés, grillés ou fumés, rillettes et autres préparations. La consommation de poisson cru mariné (ceviche, carpaccio, tartare par exemple) ou de poisson salé et séché ou fumé est aussi pratiquée. Il convient de souligner que la préparation et la consommation de poissons crus est en expansion. Les résultats de l'étude INCA3 montrent un doublement du taux de consommateurs de poissons crus (de 15 % à 30 %) entre 2006 et 2015 (Anses 2017b).

4.5.3.2. Probabilité de survenue de botulisme en rapport avec la préparation des poissons

Comme précédemment indiqué, le GT considère que les poissons pêchés, en vue de leur consommation, ne montrent aucun signe de maladie. Au-delà de cette situation générale, deux situations particulières ont été considérées par les experts : cas de botulisme de type E d'un poisson capturé à un stade préclinique, ce qui impliquerait la présence de toxine libre dans les tissus (situation 1) et cas de poissons pêchés qui présenteraient un portage, cutané et surtout digestif de *C. botulinum* (situation 2).

La préparation passe successivement par l'éviscération (qui vise à retirer la masse intestinale) complétée par un rinçage à l'eau froide (eau potable) de la cavité abdominale, le retrait des

⁶⁹ https://sante.gouv.fr/IMG/pdf/2023_09_guidesanitaire_autoconsommation.pdf

nageoires et des écailles (non systématique) ainsi que le retrait éventuel de la tête. Le poisson est ensuite rincé à l'eau froide pour éliminer les résidus, avant d'être éventuellement découpé en darnes ou fileté⁷⁰. Ces opérations peuvent être complétées éventuellement par le pelage (retrait de la peau) sous eau courante, dans le cas où seuls les filets sont consommés. Le recours au Guide de bonnes pratiques d'hygiène (GBPH) et d'application de l'HACCP (*Hazard analysis critical control point*) pour l'activité de mareyage édité à l'usage des professionnels est indiqué pour la bonne réalisation de ces opérations⁷¹.

Comme vu précédemment, les parties du poisson éliminées à cette étape (situations 1 et 2) éventuellement contaminées par *C. botulinum* ou la toxine botulique sont la peau, les branchies, et surtout le contenu du tractus digestif. Les rinçages recommandés réduisent les risques en rapport avec la manipulation des poissons. Les poissonniers effectuent ces opérations en portant des gants, limitant ainsi la probabilité de contact cutané.

La principale situation à risque pour le manipulateur dans ce contexte est celle de coupures profondes avec le couteau utilisé pour effectuer ces opérations, éventuellement contaminé au contact des téguments du poisson, et surtout en cas de déchirure ou coupure du tractus digestif. Rappelons en effet que des spores de *C. botulinum* C/D ou E peuvent être présentes dans le tube digestif de poissons sans signe clinique de botulisme, et que toxine et bactéries sont présentes dans le tube digestif des poissons atteints de botulisme de type E. Comme déjà indiqué, le risque de contamination par blessure lié à une colonisation de la plaie par la bactérie et production *in situ* de toxine ne peut pas être éliminé. Comme dans le cas de blessures occasionnées lors de la manipulation des poissons (cf. § 4.5.2.1.2), les experts estiment peu probable la survenue de cas de botulisme de sous-type C/D ou de type E à la suite d'une blessure se produisant dans ces conditions.

Le risque de blessure peut être réduit par le port de gants et l'emploi d'un couteau bien aiguisé. De plus, le risque de contamination peut être encore réduit par le lavage régulier du couteau à l'eau propre et par un lavage soigneux et une désinfection de la plaie en cas de blessure.

4.5.3.3. Devenir de *C. botulinum* au cours de la transformation et la conservation des poissons

La possibilité de présence du danger (toxine, spore, cellule végétative) dans le poisson a été évaluée dans la section 4.4.2.3. La présente section est consacrée au devenir du danger dans l'aliment issu des prises de pêche. Trois cas sont possibles : persistance, amplification (germination, croissance et toxinogénèse), inactivation partielle ou totale. Ces possibilités sont évaluées au cours de la transformation et de la conservation de trois produits : (i) filet de poisson cuit à la poêle (ou poisson au four) ou en terrine, (ii) conserve de poisson et (iii) poisson transformé (poisson salé, séché ou fumé).

Après la prise, si le poisson n'est pas conservé vivant, cette évaluation implique une éviscération précoce, un transport rapide depuis le lieu de pêche (moins de deux heures) et en condition permettant un maintien des poissons au frais.

⁷⁰ Opération consistant à lever les filets.

⁷¹ [100723_GBPH_MAREYAGE_guide-de-bonnes-pratiques-d'hygiène_HACCP_activités-de-mareyage.pdf \(service-public.pf\)](#)

Deux situations sont envisagées par les experts :

1. poisson sans signes cliniques mais en phase présymptomatique de botulisme de type E. La toxine est potentiellement présente dans les muscles mais à une concentration faible selon Yule, Austin et al. (2006). La bactérie (cellule végétative ou spore) peut se retrouver en surface (peau, écailles et branchies) ou dans le tube digestif (voir § 4.4.2.3).
2. poisson sans signes cliniques (tant pour le botulisme de type E que pour les types C, C/D). Dans ce contexte, la toxine est absente mais la présence de bactéries (en surface ou dans les viscères) ne peut être écartée (voir § 4.4.2.3).

Le devenir de ces prises (situations 1 et 2) fait l'objet de l'analyse suivante, considérant trois modes de transformation : cuisson (à la poêle, au four, entier, en filet ou en terrine), conserve et transformation sans cuisson (fumé, salé ou séché).

4.5.3.3.1. *Produit cru à cuire (filet de poisson ou poisson entier, préparations cuites (terrines))*

Situation 1 : le filetage par lui-même sera sans effet sur l'évolution de l'éventuelle toxine E présente dans le muscle. Par contre, compte tenu de la thermosensibilité de la toxine E, la cuisson de ces filets entraînera la réduction de sa quantité. Il existe peu de données permettant de documenter la valeur de réduction décimale de la toxine E dans les denrées alimentaires. Dans leur revue, Roberts et Gibson (1979) soulignent qu'un traitement de 2 min à 70 °C suffit pour inactiver les toxines E (même efficacité que sur les toxines A et B). Pour comparaison, même si ces toxines ne sont pas envisagées dans le muscle pour la situation 1, il faut atteindre 90 °C pour obtenir le même résultat en 2 min sur les toxines de types C et D, plus résistantes à la chaleur.

NB : les températures et durées de traitement mises en œuvre dans les essais évaluant l'inactivation par la chaleur des toxines botuliques sont bien supérieures à celles déclenchant la sensation de brûlure chez l'être humain (50 - 60 °C). Ainsi, un simple réchauffage d'un aliment à ces températures doit être considéré insuffisant pour inactiver les toxines botuliques.

La cuisson portant en tous points du volume du filet, du poisson entier ou de la préparation cuite (terrine) à une température de 70 °C pendant 2 min paraît suffisant pour inactiver les toxines E potentiellement présentes dans cette situation 1.

Situation 2 : dans ce cas il est considéré (après éviscération) que le danger (bactérie ou spore) peut être retrouvé en surface : peau et cavité abdominale. Comme rappelé dans le rapport socle (Anses 2021a), la maîtrise de la chaîne du froid exclut toute possibilité de croissance et de toxinogénèse des *C. botulinum* du groupe III. S'agissant des *C. botulinum* non protéolytiques de type E, psychrotrophes, le modèle de microbiologie prévisionnelle établi sur des données de culture en laboratoire (en milieu de culture et sous atmosphère maîtrisée) prévoit une croissance de 4,5 log₁₀ pour des produits à pH = 6 et à activité de l'eau de 0,997 en 10 jours (2/3 du temps à 4 °C et 1/3 à 8 °C). Cependant les tests de croissance réalisés par Peck, Webb et Goodburn (2020) pour des viandes conservées selon un scénario de chaîne du froid (3 °C / 1 j, 5 °C / 1 j, 22 °C / 2 h puis 8 °C le reste du temps) constatent l'absence de neurotoxine E détectable en fin de date limite de consommation. La toxine botulique n'a été détectée que dans des viandes manifestement altérées. Le poisson s'altérant plus rapidement par nature, il est peu probable que, durant la durée de vie utile du produit, la croissance de *C. botulinum* soit assez importante pour entraîner la production d'une quantité de toxine

suffisante pour être préoccupante. Chez le consommateur lors de la cuisson, la faible épaisseur des pièces est un élément favorable à la diffusion rapide de la chaleur à l'ensemble de la préparation. Une cuisson entraînera une inactivation des formes végétatives de *C. botulinum* du groupe III si la température est maintenue 10 min à 80 °C (Anses 2022a) et de celles de type E non protéolytiques si la température est maintenue 15 minutes à 60 °C (Grecz et Arvay 1982).

L'action de la cuisson sur les éventuelles spores présentes sera limitée et discutée ci-après.

Par ailleurs, une contamination post-cuisson résultant d'une erreur de pratique en cuisine est possible. Toutefois, les conditions de la production de toxine ne seront pas réunies dans les conditions attendues de consommation rapide et d'application rigoureuse d'une chaîne du froid sur les éventuels restes du repas (< 4 °C) et consommation de ceux-ci dans les trois jours⁷².

Le Tableau 9 ci-dessous présente les résultats d'inactivation du danger selon quatre scénarios de cuisson :

- une valeur pasteurisatrice (VP) de 100, équivalent à 100 minutes à la température de référence de 70 °C (ou 10 min / 80 °C, 1 min / 90 °C) ;
- une VP de 200, équivalent à 200 minutes à la température de référence de 70 °C (ou 20 min / 80 °C, 2 min / 90 °C) ;
- une VP de 1000 équivalent à 1 000 minutes à la température de référence de 70 °C (ou 100 min / 80 °C, 10 min / 90 °C) ;
- une VP de 3 000 équivalent à 3 000 minutes à la température de référence de 70 °C (ou 300 min / 80 °C, 30 min / 90 °C).

Tableau 9. Impact des scénarios de cuisson sur les différentes formes de *C. botulinum* types C/D, E*.

	Spores de <i>C. botulinum</i> du groupe III	Toxine botulique types C, D	Spores de <i>C. botulinum</i> de type E	Toxines types E
VP 100	Pas d'effet	Inactivation partielle	> 6 D	Inactivation totale (non détectable)
VP 200	Pas d'effet	Inactivation totale (non détectable)	> 12 D	Inactivation totale (non détectable)
VP 1 000	1 D**	Inactivation totale (non détectable)	> 12 D	Inactivation totale (non détectable)
VP 3 000	3 D	Inactivation totale (non détectable)	> 12 D	Inactivation totale (non détectable)

* Il est convenu en microbiologie des aliments (recherche et dénombrement de spores) qu'un chauffage de 10 min à 80 °C élimine toutes les cellules végétatives. **D : réduction décimale, VP : valeur pasteurisatrice.

Conclusion sur les points clés de maîtrise pour un produit cru à cuire

Une cuisson du poisson permet la maîtrise de la toxine E (poisson en phase pré-clinique) et des cellules végétatives types C, C/D et E (poissons pêchés vivants sans signe clinique).

⁷² Durée de conservation recommandée pour les plats cuisinés à domicile et les produits « traiteur ».

Le GT souhaite porter l'attention sur certains points de vigilance notamment le respect de la chaîne du froid (particulièrement pour le type E qui est psychrotrophe) et l'efficacité du nettoyage et de la désinfection des équipements et des surfaces de découpe qui restent des éléments clés de la maîtrise sanitaire des produits consommés cuits (éviter la recontamination post-cuisson).

4.5.3.3.2. Conserve

Les barèmes temps de cuisson/température classiquement utilisés pour la préparation de conserve de poisson permettent la maîtrise du danger, tant vis-à-vis de la toxine (situation 1) que pour les formes végétatives des types C, C/D et E (situations 1 et 2). Une vigilance particulière doit être portée à l'application effective de ces barèmes au regard de l'éventuelle présence de spores (attendue en quantité faible dans ces conditions d'animaux ne présentant pas de forme clinique). À l'autocuiseur, un traitement de 20 minutes à 121 °C (correspondant à 121 °C/ 3 minutes à cœur du produit) entraîne une inactivation de la population des spores de *C. botulinum* des groupes II et III (plus de 12 log d'abattement).

Conclusion sur les points clés de maîtrise pour les conserves

La préparation standard des conserves de poisson permet la maîtrise du risque de botulisme tant dans la situation 1 (poisson sans signes cliniques mais en phase présymptomatique de botulisme de type E) que dans la situation 2 (poisson sans signes cliniques mais avec portage digestif ou cutané). Comme pour toute conserve, le respect des barèmes temps / température de cuisson est le point clé de la maîtrise apportée par cette transformation alimentaire.

4.5.3.3.3. Poissons crus, fumés, salés ou séchés

Dans le cadre de la saisine, la fumaison concerne certains poissons d'eau douce comme la carpe. Sur ces poissons, elle est réalisée après éviscération voire après levée des filets. Le poisson est souvent salé avant la fumaison (par immersion dans une saumure ou en appliquant du sel sec). La salaison peut durer de quelques heures à plusieurs jours, en fonction de la taille et du type de poisson. Après la salaison, le poisson est séché à l'air à température ambiante jusqu'à 24 h. Le fumoir doit être préchauffé à la température adéquate. Deux types de fumaisons peuvent être pratiqués : une fumaison à froid qui se fait généralement entre 20 et 30 °C et dure jusqu'à plusieurs jours selon la taille de la pièce à fumer, ou une fumaison à chaud entre 60 et 80 °C qui va durer entre 1 et 6 heures.

Ce mode de conservation repose notamment sur une diminution significative de l'activité de l'eau (a_w) du produit, qui doit *in fine* être inférieure à 0,85 (salage et séchage). L'exposition au sel inhibe la croissance potentielle de *C. botulinum* (concentration NaCl inhibitrice si supérieure à 3,5 % pour les *C. botulinum* groupe II et 5 % pour le groupe III – cf. Tableau 2) et l' a_w finale devrait prévenir la croissance de la bactérie donc la toxinogénèse (situation 2), y compris en condition d'anaérobiose éventuellement obtenue par une conservation sous vide et à 4 °C.

Les températures de fumaison à froid ne permettent pas de maîtriser la toxine E éventuellement présente dans la situation 1, ce que permet la fumaison à chaud (si effectuée à partir d'une température 60 °C pendant au moins 1 heure).

Conclusion sur les points clés de maîtrise pour les poissons crus, marinés, fumés, salés ou séchés

Les procédés de conservation combinant le séchage, le salage et la fumaison (si réalisés selon les bonnes pratiques telles qu'indiquées dans le GBPH de la filière) permettent une maîtrise de la croissance des *C. botulinum* de type II et III éventuellement présents sur les poissons. Si la toxine E est présente dans le muscle, seule la fumaison à chaud (si effectuée à partir d'une température 60 °C pendant au moins 1 heure) peut aboutir à la maîtrise du danger.

Ces processus ne correspondant pas à une stérilisation, il est rappelé que la conservation à 4 °C de ces produits s'impose (y compris lors d'une présentation sous vide).

Un point de vigilance doit être porté pour la consommation crue (quel que soit le mode de préparation *ceviche*, marinade...) qui doit être évitée en cas de suspicion de présence de cas de botulisme dans le plan d'eau où ont été pêchés les poissons consommés.

En conclusion, lors de la consommation de poissons pêchés issus d'un plan d'eau contaminé, les scénarios à risque élevé d'exposition à une toxine botulique sont les suivants :

- dans le cas de poissons en phase pré-symptomatique de botulisme E (présence potentielle de toxine dans les muscles, à faible concentration) : la consommation de filets de poissons crus (marinade, *ceviche*) ou fumés à froid ;
- dans le cas de poissons sans signes cliniques (présence potentielle de spores et de bactéries) : la consommation de préparations de poisson cuit à un niveau ne permettant pas l'inactivation complète du danger puis mal conservé (non-respect de la chaîne du froid et/ou de la durée de conservation des produits ; inactivation partielle des spores, germination, croissance et production de toxine au cours de la conservation).

Le risque de botulisme alimentaire peut être maîtrisé si les bonnes pratiques de préparation et de conservation des produits sont appliquées. Ainsi :

- la cuisson domestique, la fumaison à chaud et le respect des barèmes de stérilisation des conserves de poisson permettent de maîtriser le danger (toxines et/ou spores des *C. botulinum* groupe III et type E) ;
- le respect de la chaîne du froid est un point clé de la maîtrise de la croissance et de la toxinogénèse de *C. botulinum* (particulièrement pour le type E) dans les produits n'ayant pas subi de traitement thermique ou l'ayant subi à un niveau insuffisant.

4.5.4. Probabilité de survenue de botulisme humain associé à la préparation et la consommation de gibier d'eau

Dans son évaluation, le GT a considéré les oiseaux chassés en vue de leur consommation et ne montrant aucun signe de maladie. Cela n'exclut pas néanmoins le portage, cutané et surtout digestif de *C. botulinum* et éventuellement de toxine. Il faut aussi envisager l'éventualité d'un oiseau chassé à un stade préclinique (en cours d'incubation), dans les tissus duquel la

toxine et/ou la bactérie sont déjà présentes. S'agissant d'oiseaux chassés, il faut tenir compte du risque de souillures d'origine digestive des carcasses liées à l'action de la grenaille tirée⁷³ (déchirures de l'intestin) si elles ont été reçues dans l'abdomen, par exemple lorsque le tir est effectué sur l'oiseau en vol.

4.5.4.1. Modes et délais de conservation du gibier d'eau

Le GT considère que les modes⁷⁴ et délais de conservation sont des facteurs importants conditionnant le risque de transmission du botulisme au consommateur. Les pratiques de conservation et les délais réellement appliqués dépendent de chaque pratiquant, de ses habitudes et de ses contraintes matérielles. Les grandes tendances de pratiques mentionnées ci-après sont des estimations s'appuyant sur les propos de référents cynégétiques de l'OFB.

Une fois l'oiseau tiré récupéré, deux étapes successives peuvent être distinguées :

- la phase « récupération oiseau - retour au domicile ».

L'oiseau est conservé ici à température ambiante (pas d'usage de glacière) dans un contenant de nature variable, du lieu de chasse au retour à domicile (ou au relais de chasse) ; selon les modes de chasse, et le contexte considéré, la durée de cette phase peut être très variable ; de 1 - 3 heures pour la chasse à la passée, à des délais de 3 - 6 heures pour les chasses sous abri ou les chasses commerciales ;

- la phase « retour au domicile-préparation de l'oiseau ».

Les modalités dépendent des chasseurs. Les trois types de conservation (température ambiante, réfrigération, congélation) et les modalités mixtes (ex : réfrigération + congélation) sont possibles.

La conservation à température ambiante est choisie si une préparation rapide (dans les deux heures qui suivent) est envisagée.

Si la préparation est différée, cas très fréquent, le chasseur choisit de réfrigérer le plus souvent, voire de congeler (de plus en plus pratiqué) l'oiseau (corps entier), avant préparation. Dans ce cas de préparation différée, l'oiseau sera préparé dans un délai très variable allant de quelques heures à deux jours dans le cas d'une réfrigération, ou allant de deux à plus de cinq jours dans le cas d'une congélation.

À la connaissance du GT, il n'existe pas de guide de bonnes pratiques d'hygiène relatif à la préparation/conservation du gibier d'eau.

4.5.4.2. Habitudes de consommation du gibier d'eau en France

Les oiseaux d'eau chassés (et récupérés à la suite du tir) font très majoritairement l'objet d'une consommation alimentaire. Il convient de noter tout de même que :

- la consommation est rapportée/considérée comme quasi systématique pour les chasses individuelles (passée, sous abri) ;

⁷³ Chaque cartouche tirée contient plusieurs dizaines de billes métalliques de tailles différentes. Le nombre de ces billes (quelques unités à quelques dizaines), et leur degré de pénétration dans l'organisme de l'oiseau restent variables.

⁷⁴ À température ambiante, sous réfrigération (2 à 8 °C), sous congélation (-18 °C).

- la proportion d'oiseaux consommés (principalement des canards colverts) est moins connue et probablement moindre pour les chasses commerciales (collectives) ; en principe, chaque chasseur reçoit une part du tableau de chasse mais ne la consomme pas forcément.

Le consommateur de gibier d'eau est en grande majorité le chasseur et son entourage proche. À noter ici le cas particulier du canard colvert (espèce gibier d'eau majoritaire), qui est considéré comme une espèce domestique selon l'arrêté du 20 décembre 1983⁷⁵ ; à ce titre, le canard colvert chassé peut être vendu à un tiers ou être mis sur le marché par un circuit de distribution de gibier⁷⁶.

Une personne autre que celles de l'entourage proche du chasseur peut ainsi théoriquement consommer un canard colvert chassé, qui pourra provenir d'un circuit de distribution (*a priori* le plus souvent) ou d'un échange (don/vente) de chasseur à particulier.

Concernant la préparation de l'oiseau, différentes pratiques peuvent être rapportées, selon les habitudes et préférences du chasseur ou les espèces considérées :

- l'oiseau peut être plumé et éviscéré si une consommation entière de l'animal est envisagée (ex : canard colvert ou plongeur) ;
- l'oiseau peut aussi faire l'objet d'un prélèvement partiel pour la seule consommation des parties musculaires intéressantes (muscles pectoraux ou magrets). Dans ce cas, il n'est ni plumé, ni éviscéré. Les magrets sont ici prélevés sans qu'il n'y ait de contact entre le tissu musculaire et le contenu digestif ;
- l'oiseau peut-être épluché (plumes + peau) et éviscéré dans le cas des limicoles et consommé entier.

À noter que l'oiseau n'est généralement pas saigné, ni faisandé.

Ces habitudes de consommation et de préparation culinaire restent encore très dépendantes du chasseur et de la transmission inter-générationnelle des usages. Les oiseaux sont souvent consommés tels quels ou sous forme transformée (terrines principalement).

Lorsqu'il est non transformé, l'oiseau (ou les parties d'intérêt) est consommé rôti, sauté, poêlé ou grillé. La cuisson peut être à cœur mais est le plus souvent rosée. Le foie et les gésiers (des anatidés principalement) sont consommés de manière non systématique.

Lorsque l'oiseau est consommé en terrine (pratique très fréquente⁷⁷), le chasseur peut effectuer lui-même cette préparation, ou la confier à un charcutier professionnel en sous-traitance.

À la connaissance du GT, il n'existe pas de guide de bonnes pratiques de confection de ces terrines à destination du chasseur.

⁷⁵ <https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000000859361>

⁷⁶ Cette voie est susceptible d'être sollicitée fréquemment dans le cadre de chasse commerciale générant des tableaux de chasse plus importants.

⁷⁷ Pour les anatidés mais aussi pour les espèces peu intéressantes sur un plan gustatif (foulque, rallidés, limicoles...).

4.5.4.3. Probabilité de survenue de botulisme en rapport avec la préparation de produits issus de gibiers d'eau en vue de leur consommation

Comme vu précédemment, toutes les parties des oiseaux sont éventuellement contaminées par *C. botulinum* ou la toxine botulique : les plumes, le contenu du tractus digestif et de manière globale les tissus. Le port de gants lors de la préparation est probablement peu pratiqué rendant forte la probabilité de contact cutané, notamment dans le cas d'une plumaison suivie d'une éviscération.

La situation la plus à risque retenue par les experts est celle d'une coupure profonde avec le couteau utilisé pour effectuer la préparation de produits issus de gibiers d'eau en vue de leur consommation, s'il est contaminé au contact des organes, et surtout en cas de déchirure ou coupure du tractus digestif. Il faut rappeler enfin, en effet, que le tractus digestif peut héberger des spores de *C. botulinum* C, mosaïque C/D ou E. Cependant, les experts estiment peu probable la survenue de cas de botulisme (de sous-type C/D ou de type E) à la suite d'une blessure se produisant dans ces conditions.

Il est à noter que le lavage soigneux et la désinfection de la plaie contribueront le cas échéant à limiter encore le risque de survenue de botulisme.

4.5.4.4. Devenir de *C. botulinum* au cours de la transformation et de la conservation des gibiers d'eau

La maîtrise des dangers en profondeur des parties consommées des oiseaux va reposer notamment sur des mesures consistant en l'élimination de la plus grande partie du sang (saignée) et des viscères (éviscération). Lors d'une action de chasse, la saignée n'est pas réalisée et/ou l'éviscération est réalisée de manière tardive contrairement aux actions systématiques en filières avicoles chair industrielles. L'absence ou la réalisation tardive de ces actions sont un facteur favorisant une éventuelle contamination des parties consommées. Dans la suite de ce chapitre, le devenir du danger est évalué lors de la préparation de deux produits types : une volaille rôtie et une terrine contenant du muscle et du foie.

Deux situations seront envisagées par les experts :

1. les oiseaux abattus ne présentent pas de signes cliniques mais sont en phase présymptomatique de botulisme E ou C/D. La toxine est potentiellement présente dans le muscle, le foie, le sang et le contenu digestif, mais la quantité attendue de toxines chez ces animaux pré-symptomatiques est faible. La bactérie peut se retrouver sur la peau ou les phanères, dans le tube digestif, dans le foie ou dans le muscle (voir § 4.4.2.4) ;
2. les oiseaux sont abattus alors qu'ils ne présentent pas de signes cliniques de botulisme (E, C/D). Dans ce contexte, la toxine est absente dans le muscle et le foie mais la présence de bactéries (sur la peau ou les phanères, dans le tube digestif, dans le foie ou dans le muscle) ne peut être écartée (voir § 4.4.2.4).

4.5.4.4.1. *Produit cru à cuire (canard rôti)*

La préparation d'un canard implique, au préalable, une éviscération qui permet d'enlever le tube digestif (et son contenu) ainsi que le foie pour la suite des opérations. Une attention

particulière peut être portée sur la récupération du foie dans l'éventualité d'une incorporation à une sauce (sauce de foie de canard sauvage).

Dans ce contexte, il s'agit d'assurer la maîtrise de l'évolution de la production de toxine, donc de la germination/croissance du danger pendant la période transitoire entre la chasse et la cuisson. Toutes les étapes du processus (jusqu'à l'enlèvement du tube digestif) entraînant l'émission du danger sont considérées comme des étapes clés au regard du transfert des *C. botulinum* vers les plumes, la peau ou le muscle. Après l'étape d'éviscération, les contaminations sont généralement qualifiées d'indirectes, par contact entre la carcasse et une surface contaminée (équipement, matériel, opérateurs, etc.). Ainsi le stockage et le transport devraient être réalisés sous le régime du froid, qui évite la croissance des *C. botulinum* du groupe C ou D, et ralentit fortement celle du groupe E (la croissance en 10 h à 4 °C est en effet très limitée : pas plus de 0,15 log₁₀ supplémentaire à la population initiale).

Dans le contexte de la situation 1, il s'agit d'apprécier l'effet de la cuisson sur les toxines E, C/D chez le consommateur. Comme évoqué dans le cas du poisson, la cuisson entraînera une réduction de la quantité de toxine E éventuellement présente dans le muscle, car cette toxine est reconnue thermosensible. Pour rappel un traitement de deux minutes à 70 °C suffit pour inactiver les toxines E. Cette condition est classiquement atteinte lors de la cuisson d'un canard rôti (l'atteinte de la température requise devrait être contrôlée par un thermomètre à viande). La pratique classique de laisser reposer le canard sauvage rôti en sortie de four après cuisson (10 - 15 minutes) participe à l'exposition prolongée à ces températures de la toxine éventuellement présente. Ainsi, la cuisson d'un canard portant tous points du volume à cuire à une température de 70 °C pendant deux minutes apparaît suffisante pour maîtriser le risque lié à l'éventuelle présence de la toxine E dans cette situation 1, et le scénario à risque ne conduit pas à une exposition du consommateur au danger.

Les toxines C et C/D sont plus thermorésistantes. Un traitement de 20 minutes à 70 °C (équivalent à deux minutes à 80 °C) entraînerait un effet de réduction sur la teneur en toxine C ou D de l'ordre de 90 % à 99 %. La concentration initiale est présumée faible dans cette situation 1 : les oiseaux sont en phase préclinique, n'expriment pas de signes cliniques (ces derniers nécessitent la présence de la toxine). Dans un contexte de prolongation raisonnable de l'application de la chaleur (environ 20 minutes à 70 °C en tous points), on aboutit à une réduction de 90 % à 99 % de cette charge faible, ce qui permettrait de garantir que la dose susceptible de rendre un consommateur malade ne soit pas atteinte. L'analyse vaut aussi pour les foies avec un point de vigilance sur les conditions de cuisson des sauces (temps et températures) qui doivent être différentes d'un réchauffage (cf. § 4.5.3.3.1).

Dans les situations 1 et 2, il s'agit aussi d'évaluer l'effet de la cuisson sur l'hypothétique population de spores et de cellules végétatives présente en surface de la pièce de viande. Chez le consommateur lors de la cuisson, la taille importante de la pièce (canard entier à rôtir) est un élément défavorable à la diffusion rapide de la chaleur à l'ensemble de la préparation. Pour ce qui concerne l'éventuelle contamination de surface, c'est un élément favorable : une exposition des spores et formes végétatives à une température de 180 / 200 °C entraînera une inactivation du danger si la température est maintenue de l'ordre de quelques secondes (D_{101 °C} de l'ordre de 0,7 minutes pour les spores du groupe III).

Dans ce contexte de diffusion lente de la température au cours de la cuisson, l'atteinte d'une température de 70 °C en tous points de la pièce pendant deux minutes permettra de détruire la toxine E mais pas les éventuelles spores, même des types les plus thermosensibles. Pour rappel, le rapport socle (Anses 2021a) mentionne que « les estimations de D à 80 °C pour les

spores des types non protéolytiques B, E et F sont comprises entre 1 min et 1,5 min avec des valeurs de z comprises entre 6,5 °C et 6,9 °C (Wachnicka et al. 2016) ». Ainsi à 70 °C la réduction d'un facteur 10 de la population de spores *C. botulinum* de type E (la plus thermosensible) nécessiterait une durée de cuisson de l'ordre de 15 à 20 minutes.

Le risque d'inactivation incomplète des spores lors de la cuisson ne peut donc être écarté. Toutefois les conditions de croissance bactérienne et de production de la toxine ne sont pas réunies en cas de consommation de la pièce rôtie peu de temps après la cuisson, de conservation au froid (<4 °C) et de consommation dans les trois jours. En cas de dépassement de cette période, une nouvelle cuisson ou un réchauffage bien conduit seront nécessaires pour inactiver la toxine.

Conclusion sur les points clés de maîtrise pour des produits crus à cuire de type canard rôti

Les modalités de conservation et de préparation du gibier influencent le niveau de contamination en surface ou en profondeur des morceaux à cuire. Les points clés de la maîtrise sont, après la mort de l'animal, une conservation et un transport court au froid, une éviscération minimisant la diffusion du contenu intestinal au contact de la carcasse. La cuisson permet la maîtrise des toxines⁷⁸ (oiseaux en phase pré-symptomatique) et des formes végétatives (oiseaux porteurs asymptomatiques) potentiellement présentes (particulièrement en surface).

L'action de la cuisson sur les éventuelles spores présentes peut être limitée selon le temps et la température appliqués sur les parties de la carcasse les plus éloignées de la surface chauffée. Toutefois, les conditions de la production de toxine (germination des spores et multiplication bactérienne) ne seront pas réunies en cas de consommation rapide et/ou de réfrigération à 4 °C pendant une durée inférieure à trois jours. Une recuisson, par son action sur la toxine, permet de prévenir l'apparition d'un botulisme pour le consommateur.

4.5.4.4.2. Terrine

Les recettes de terrines, nombreuses, peuvent être décrites comme un mélange de foie et de viande de canard, plus ou moins hachés, éventuellement marinés dans des alcools ou autres marinades acides, assaisonnés puis cuits.

Deux types de terrines seront considérées. La première est une terrine en conserve : l'application scrupuleuse des barèmes temps/température de cuisson classiquement utilisés pour la préparation des conserves permet la maîtrise du danger (bactérie et toxine). Ainsi, à l'autocuiseur (121 °C) un traitement de 20 minutes (correspondant à 121 °C / 3 minutes à cœur) entraîne une inactivation de la population des spores de *C. botulinum*, et *a fortiori* des toxines. Une vigilance particulière doit cependant être portée à l'application effective de ces barèmes au regard de l'éventuelle présence de spores (attendue faible en quantité dans ces conditions d'animaux ne présentant pas de forme clinique).

Le second type de cuisson des terrines se fait au four (au bain marie) avec une cuisson minimum de 35 / 40 minutes (souvent une heure), entre 150 et 200 °C. Si une cuisson suffisante à cœur permet la destruction des toxines (70 °C / 2 min pour la toxine E et 90 °C / 2 min pour les toxines C/D), elle n'entraîne pas l'inactivation complète des spores du

⁷⁸ 70 °C / 20 min : Inactivation de 100 % pour la toxine E et de 90 à 99 % pour les toxine C et C/D.

groupe III et du groupe II (pour des VP inférieures à 200) (Tableau 9). Toutefois, les conditions de la production de toxine (germination des spores et multiplication bactérienne) ne seront pas réunies en cas de réfrigération à 4 °C et de consommation rapide de l'aliment (recommandée dans un délai de trois jours).

Conclusion sur les points clés de maîtrise pour les terrines

La maîtrise du danger *C. botulinum* dans une préparation sous forme de terrine fabriquée à partir d'un canard sauvage abattu ne présentant pas de signe clinique implique de prévenir l'intoxication directe ainsi que d'éliminer les spores et les formes végétatives.

Le respect des barèmes de stérilisation permet la maîtrise du danger (bactérie et toxine) dans les terrines en conserve. Toutefois, au regard de la thermorésistance des spores, la cuisson en terrine (au bain-marie) ne permet pas l'inactivation complète des spores du groupe III, ni celles du groupe II lorsque les VP sont inférieures à 200. Toutefois, les conditions de la production de toxine (germination des spores résiduelles et multiplication bactérienne) ne seront pas réunies en cas de réfrigération à 4 °C et de consommation rapide de l'aliment.

Pour rappel, en cuisine il convient de respecter systématiquement les bonnes pratiques d'hygiène pour éviter notamment les contaminations post-cuisson.

En conclusion, la survenue de botulisme en rapport avec la préparation de produits issus de gibiers d'eau en vue de leur consommation peut être évitée.

Les conditions d'abattage, de transport, de conservation et de préparation (éviscération) du gibier chassé vont influencer la contamination des matières premières.

Dans la perspective de la consommation de gibier d'eau, une cuisson (canard entier rôti ou en terrine) permet (sous réserve du maintien en tout point de la préparation d'une température de 70 °C pendant trois minutes) la maîtrise des éventuelles toxines et formes végétatives initialement présentes.

En cas de consommation différée, une réfrigération rapide, une conservation au froid et une consommation dans les trois jours permettront d'éviter le risque de botulisme (pas de croissance, ni de toxinogénèse par les spores ayant survécu à la cuisson).

Au-delà, un nouveau passage de trois minutes à 70 °C en tous points de la préparation permettra là encore d'éviter la survenue d'un botulisme pour le consommateur ;

Ainsi, le risque de botulisme en lien avec la consommation de gibier d'eau peut être maîtrisé par l'application des mesures usuelles de traitement et de conservation des aliments précédemment évoquées.

4.6. Bilan de l'évaluation des risques

Le risque pour la santé humaine a été évalué dans le contexte de développement d'un épisode de botulisme C/D ou de botulisme E sur un plan d'eau (Tableau 10).

Les activités de promenade, pêche, chasse ou les interventions dans le cadre de la gestion du site contaminé exposent au danger dès lors que les personnes qui s'y livrent ont un contact cutané avec le milieu (eau et sédiment en particulier) ou saisissent un animal chassé ou pêché dont les téguments sont souillés par des spores et/ou la toxine, un oiseau malade ou un

cadavre. À cet égard, il faut rappeler que ni la bactérie, ni la toxine n'ont la capacité de traverser la peau saine. Le botulisme survient en présence d'une blessure profonde associée à la pénétration de spores C/D ou E dans les tissus. En effet, une blessure profonde contaminée peut créer des conditions d'anaérobiose permettant la germination des spores de *C. botulinum* et la production de toxine. Cependant, la probabilité qu'un tel événement survienne lors de ces activités est extrêmement faible. Ainsi, les experts du GT estiment peu probable la survenue de cas de botulisme à la suite d'une blessure, quelle que soit l'activité considérée.

Par ailleurs, les faibles quantités de toxine susceptibles d'être présentes dans l'eau des sites de baignade (niveau « - » qualifiant la probabilité de présence de toxine C/D ou E) ne permettent pas d'envisager un risque en cas d'ingestion d'eau. Ainsi les experts estiment peu probable la survenue de cas de botulisme à la suite de baignades et activités nautiques, y compris lors de l'émergence d'un épisode de botulisme E sur le plan d'eau.

Concernant le risque de botulisme alimentaire découlant des activités de pêche ou de chasse, la situation la plus à risque résulte de la consommation de préparations à base de poissons ou de gibier d'eau contenant de la toxine botulique. En fait, elle résulte principalement de mauvaises pratiques qui accompagnent la préparation et la conservation des produits bruts ou transformés appelés à être consommés, en principe bien connues des professionnels pour la prévention du botulisme, moins bien des particuliers dans le contexte de la restauration familiale. Cette éventualité est néanmoins limitée à l'échelle nationale du fait de la faible toxicité pour l'humain de la toxine C/D, plus fréquemment impliquée dans les foyers en avifaune sauvage que le type E dont l'impact chez les poissons vivant dans les plans d'eau correspondants est inconnu.

Un point de vigilance doit être porté pour la consommation crue des poissons (*ceviche*, marinade, etc.) qui doit être évitée en cas de suspicion de cas de botulisme de type E dans le plan d'eau où ont été pêchés les poissons consommés.

Les situations les plus à risque retenues par les experts et les propositions de mesures de réduction du risque sont détaillées dans le Tableau 10.

Tableau 10. Situations à risque pour les humains pratiquant des activités sur plan d'eau douce où un épisode de botulisme de sous-type C/D ou de type E est suspecté ou avéré et propositions de mesures de réduction du risque.

Activité	Situation à risque		Événement indésirable	Mesures de réduction du risque
Pêche et consommation de poissons d' eau douce	Contact cutané avec l'eau ou des poissons au cours de la pêche	Inoculation de la bactérie (Blessure)	Botulisme par blessure	Port de vêtements imperméables type <i>waders</i> pour les pêches itinérantes impliquant d'entrer dans l'eau. Éviter de plonger ses mains dans l'eau de l'étang et procéder à un lavage à l'eau claire, une désinfection classique de la plaie et la pose d'un pansement adhésif. Toute plaie préalable sur les mains fera l'objet du même traitement. Adapter ses pratiques halieutiques pour minimiser le risque de blessures/coupures lors de la manipulation des prises (et d'écourter ce temps de manipulation) : selon les pratiques, l'usage d'épuisettes à maille caoutchoutées, de pinces à bec long ou de pinces adaptées pour le décrochage des hameçons pour diminuer le risque de blessures par contact (coupures de la main par la dentition du brochet commun). Port de gants et de tenues de protection si exposition importante (pêche de sauvetage par exemple).
	Contact cutané avec des poissons lors de leur préparation (écaillage, (éviscération, levée des filets...) en vue de les consommer			Lavage soigneux de la plaie à l'eau claire et désinfection. Limiter le risque de coupure par le port de gants, l'emploi d'un couteau bien aiguisé. Limiter le risque de contamination par un lavage régulier du couteau à l'eau propre. Privilégier l'utilisation de désinfectants sporicides pour décontaminer les ustensiles utilisés ainsi que le plan de travail.
	Consommation de poissons pêchés d'apparence normale : - poissons sains porteurs digestifs - poisson en phase préclinique de botulisme E	Ingestion de toxine : lors d'une consommation de filets de poissons crus (marinade, <i>ceviche</i>) ou fumés à froid ou lors d'une consommation d'un aliment à base de chair de poisson dont les modalités de préparation, les températures de conservation et/ou de cuisson sont favorables à la production de la toxine et/ou ne permettent pas son inactivation)	Botulisme alimentaire	Éviter la consommation de poissons dans ces plans d'eau et privilégier les pêches de graciation (<i>no-kill, catch and release</i>) avec relâche immédiate du poisson sur site. Si volonté de consommation : - éviter les préparations crues (<i>ceviche</i> , poisson fumé à froid, etc.) ; - respecter les prescriptions d'hygiène relatives à la préparation du poisson, aux températures de conservation et/ou de cuisson, à savoir : - nettoyer et éviscérer les poissons le plus tôt possible (généralement dans les deux heures qui suivent la session de pêche) en évitant de souiller les parties consommables avec du contenu digestif ; - réfrigérer ou congeler les poissons en attendant de les cuisiner ou de les transformer ; - cuisson à température suffisante pour détruire la toxine (voir § 4.5.3.3.1) ; - respect des barèmes de stérilisation des conserves (voir § 4.5.3.3.2) ; - consommation rapide puis application rigoureuse d'une chaîne du froid sur les restes du repas (4 °C) et consommation de ceux-ci dans les trois jours.

Activité	Situation à risque		Événement indésirable	Mesures de réduction du risque
Chasse et consommation de gibier d'eau à plumes	Contact cutané avec l'eau ou des oiseaux au cours de la chasse	Inoculation de la bactérie (blessure)	Botulisme par blessure	Éviter de plonger ses mains dans l'eau de l'étang et procéder à un lavage à l'eau claire, une désinfection classique de la plaie et la pose d'un pansement adhésif. Toute plaie sur les mains préalables fera l'objet du même traitement. Port d'équipement adapté à la chasse au gibier d'eau (bottes en caoutchouc, <i>waders</i> , vêtements imperméables et gants).
	Contact cutané avec des oiseaux chassés lors de leur préparation (découpe, éviscération) en vue de les consommer			Lavage soigneux de la plaie à l'eau claire et désinfection. Limiter le risque de coupure par le port de gants, l'emploi d'un couteau bien aiguisé. Limiter le risque de contamination par un lavage régulier du couteau à l'eau propre. Privilégier l'utilisation de désinfectants sporicides pour décontaminer les ustensiles utilisés ainsi que le plan de travail.
	Consommation de gibier d'apparence normale : - oiseau sain porteur digestif - oiseau en phase préclinique de botulisme	Ingestion de toxine (limité au cas d'une consommation d'un aliment à base de viande de gibier d'eau dont les modalités de préparation, de conservation et/ou une cuisson à température insuffisante sont favorables à la production de la toxine et/ou ne permettent pas son inactivation)	Botulisme alimentaire	Respect des prescriptions d'hygiène relatives à la préparation du gibier, aux températures de conservation et/ou de cuisson à savoir : - récupérer l'oiseau tiré le plus précocement possible (1-15 min suivant le tir) ; - préparer l'oiseau chassé (plumaison + éviscération), le plus précocement possible (idéalement dans les cinq heures après le tir), en évitant de souiller les parties consommables avec du contenu digestif ; - réfrigérer ou congeler le gibier en attendant de le cuisiner ou de le transformer ; - cuisson à température suffisante pour détruire la toxine (voir § 4.5.4.4.1) ; - respect des barèmes de stérilisation des conserves (voir § 4.5.4.4.2) ; - consommation rapide puis application rigoureuse d'une chaîne du froid sur les restes du repas (4 °C) et consommation de ceux-ci dans les trois jours.
Promenade	Contact cutané avec oiseau mort ou moribond	Inoculation de la bactérie (blessure)	Botulisme par blessure	Ne pas toucher l'animal, repérer précisément son emplacement et prévenir le gestionnaire du plan d'eau.

Activité	Situation à risque		Événement indésirable	Mesures de réduction du risque
Baignade et activités nautiques	Ingestion d'eau	Ingestion de la toxine	Botulisme alimentaire	Éviter la baignade dans les plans d'eau lors d'un épisode de botulisme.
Enlèvement des cadavres	Contact cutané avec les cadavres	Inoculation de la bactérie (blessure)	Botulisme par blessure	Port de protections vestimentaires (gants étanches, combinaison et bottes). Respect des règles d'hygiène classiques telles que se laver systématiquement les mains après contact avec les animaux, l'eau ou les sédiments. Traiter (laver, savonner et rincer à l'eau potable) et protéger les plaies (recouvrir d'un pansement imperméable). Manipulation sécurisée, en particulier pour éviter tout contact direct avec les cadavres en décomposition (utilisation d'outils pour ramasser les oiseaux).

5. Prévention et moyens de lutte contre le botulisme dans la faune sauvage

La question 3 du pétitionnaire de la saisine porte sur les préconisations à apporter (notamment auprès des chasseurs) pour limiter un épisode de botulisme dans l'avifaune sauvage et limiter le risque pour la santé publique humaine.

Avant de répondre à cette question, les mesures de gestion éventuellement applicables sur le terrain pour prévenir ou limiter les épisodes de botulisme dans l'avifaune sauvage sont passées en revue.

Ce chapitre comporte : i) une revue générale des principales mesures de gestion (préventives et curatives) décrites dans divers rapports et publications ; ii) des données présentées lors d'un *workshop* international intitulé « *Avian botulism in wildlife : a One Health Perspective* » organisé en octobre 2022 par l'Anses (projet AMI botulisme faune sauvage), au cours duquel les intervenants de différents pays ont décrit les mesures appliquées et résultats obtenus lors d'épisodes de botulisme aviaire en faune sauvage ; iii) les résultats d'une enquête menée par le GT auprès de quelques gestionnaires de plans d'eau situés en France et confrontés à des épisodes récurrents de botulisme sur les mesures effectivement mises en place.

5.1. Revue des principales mesures de gestion proposées

Une revue générale des principales mesures de gestion (préventives et curatives) décrites dans divers rapports et publications est présentée dans ce paragraphe. Ces mesures ne constituent pas pour autant les préconisations ou recommandations du GT qui sont elles présentées dans les paragraphes 7.2 et 7.3. Les mécanismes de déclenchement des épisodes de botulisme de sous-type C/D ou de type E autour d'un plan d'eau sont multiples et complexes (cf. chapitre 3.3.4). Le rôle de la température dans l'émergence d'un épisode de botulisme a été mis en avant à de nombreuses reprises : la maladie est saisonnière, principalement rapportée en été pendant la saison chaude à travers le monde. S'y ajoutent d'autres conditions variant d'un site à l'autre, dont les effets conjugués favorisent le développement bactérien et le transfert de la bactérie et sa toxine vers les espèces sensibles et conduisent aux épizooties (voir § 3.3.4.4).

L'identification précoce de ces conditions peut permettre parfois d'anticiper la survenue d'un épisode de botulisme et de proposer des actions visant à prévenir ou à atténuer, lorsque l'épisode est déclaré, l'ampleur des épisodes dans la faune sauvage.

Le choix de mesures pour prévenir ou limiter les flambées de botulisme implique une bonne connaissance des sites d'étangs et lacs concernés (réseau hydrographique, aménagements hydrauliques, qualité de l'eau) associée à une cartographie des habitats (liés à la végétation qui les composent) ainsi qu'à un inventaire et un suivi des abondances des espèces animales, les oiseaux en particulier, qui y résident et des écosystèmes à risque (sites où il y a eu des épisodes passés). Les modalités de gestion de l'étang et les possibilités de leur mise en œuvre conditionneront également la nature et l'efficacité des mesures de gestion déployées.

5.1.1. Mesures préventives

Les mesures préventives peuvent être regroupées en deux catégories : 1) surveillance du milieu et actions préventives, 2) surveillance de la faune et ramassage des cadavres.

5.1.1.1. Surveillance du milieu et actions préventives

D'une façon générale, l'émergence du botulisme dans un site révèle un dysfonctionnement de son écosystème (cf. § 3.3.4). Ce déséquilibre n'intervient pas uniquement dans l'émergence du botulisme, mais conditionne aussi d'autres événements, notamment les proliférations de cyanobactéries potentiellement productrices de toxines auxquelles il est souvent associé (Murphy et Peterson 2003; Brandis et al. 2020).

Une surveillance des écosystèmes à risque est donc nécessaire pour détecter puis appliquer le plus rapidement possible des actions de gestion en les adaptant à la situation rencontrée (gestion adaptative).

Intégré dans un plan global de gestion du site, un suivi régulier de paramètres relatifs à son fonctionnement hydrologique (niveau de l'eau, temps de résidence de l'eau, température de l'eau - ainsi que celle du sédiment - couplée au suivi de variables météorologiques, etc.) et à la qualité de l'eau (turbidité, conductivité, oxygène dissous, pH, potentiel redox, phosphore et azote dissous et particulaires, chlorophylle-a, etc.) est indispensable pour évaluer l'état des écosystèmes aquatiques et détecter des conditions favorables au démarrage d'un épisode de botulisme (Rocke, Euliss, et Samuel 1999; Barras et Kadlec 2000; Woo et al. 2010; Work et al. 2010; Pérez-Fuentetaja et al. 2011; Lafrancois et al. 2011; Vidal et al. 2013; Anza et al. 2014; Volponi et al. 2024). L'évolution des habitats peut être, en outre, contrôlée par un suivi photographique et satellitaire (télédétection) du site (Volponi et al. 2024).

Les mesures préventives proposées varient selon les situations rencontrées. Le contrôle des niveaux d'eau est une mesure de gestion fréquemment envisagée, l'objectif étant d'éviter une trop forte baisse des niveaux d'eau en période estivale et conséquemment de prévenir l'installation de conditions favorables (augmentation de la turbidité et des concentrations en matières organiques, augmentation de la température de l'eau et des sédiments, eutrophisation) au développement du botulisme (Barras et Kadlec 2000; APHA 2019; Volponi et al. 2024). La préservation d'une bonne circulation des eaux (APHA, 2019) permet aussi de limiter leur réchauffement et de favoriser leur oxygénation. La gestion des niveaux et de la circulation de l'eau peut néanmoins s'avérer assez complexe à mettre en place, surtout si elle implique des aménagements hydrauliques coûteux. Ils peuvent être complétés par des aménagements adaptés qui réduisent le risque d'abaissement des eaux (entretien de berges en pentes douces, création de roselières, etc.). Ces mesures sont cependant souvent difficiles à mettre en place, notamment en période estivale, et ce d'autant plus dans un contexte de dérèglement climatique avec des sécheresses sévères et prolongées.

Des solutions peuvent être aussi recherchées pour limiter les apports d'eau chargée en matières organiques et nutriments (composés azotés ou phosphorés), issus par exemple des pratiques agricoles (dont l'impact lié au lessivage des sols agricoles peut être augmenté par la multiplication des périodes de fortes précipitations liées au changement climatique) ou d'usines de traitement des eaux usées, incriminés parfois comme cause d'eutrophisation des plans d'eau favorisant le développement de *C. botulinum* (Vidal et al. 2013; Anza et al. 2014; Pinay et al. 2017).

La réduction des apports organiques dans les zones humides et l'élimination des matières en décomposition sont aussi des mesures présentées comme efficaces pour réduire la croissance des clostridies productrices de BoNT (Duncan et Jensen 1976; Rocke et Friend 1999; Eveltizer, Clark, et Bollinger 2010; Anniballi et al. 2013). Le ramassage des animaux morts dans et autour des plans d'eau (cf. § 5.1.1.2) et, pour des zones de surfaces limitées et accessibles, l'élimination des feuilles, branchages et algues flottantes font partie des mesures décrites dans plusieurs guides internationaux pour limiter l'apport de matière organique dans les zones à risque (APHA 2019).

Enfin, les guides internationaux proposent, dans le but de réduire les zones peu oxygénées et riches en matière organique, de retirer ponctuellement des sédiments du milieu notamment les vases par pompage. Il est à noter que cette action peut temporairement exacerber la contamination en raison de l'agitation du compartiment où se concentre la matière organique et potentiellement la bactérie (APHA 2019).

La pratique régulière d'un assec (vidange suivie d'une période sans eau) sur certains étangs à vocation piscicole éventuellement complétée par l'élimination des sédiments par curage suivi d'un chaulage (ajout de chaux vive) est aussi un moyen qui, selon ces guides, permettrait de limiter le phénomène d'eutrophisation, voire d'assainir les sédiments (voir § 5.1.2.3).

Il est à noter que ces actions, souvent coûteuses et sources de tension entre usagers sont très dépendantes des contextes locaux et ne peuvent être envisagées qu'au cas par cas. La plupart, même si elles sont applicables, deviennent inabordables dans les étangs de grande taille.

5.1.1.2. Surveillance de la faune et ramassage des cadavres de vertébrés.

Complémentaire du suivi de la qualité de l'eau et des habitats, la surveillance de la faune sauvage (surveillance événementielle) permet, en recherchant les cadavres de vertébrés et les signes cliniques évocateurs chez les oiseaux, de détecter précocement un épisode de botulisme. La mortalité de certains poissons peut être aussi révélatrice d'un épisode de botulisme (de type E en particulier).

Cette surveillance peut être renforcée par l'augmentation de la fréquence des contrôles sur site dès que les conditions environnementales sont favorables au développement de la maladie. Malgré le coût des analyses qui le plus souvent restent à la charge de gestionnaires du site, la surveillance inclut un recours au laboratoire pour confirmer une suspicion de botulisme, et définir le toxinotype en cause. Sur les sites ayant déjà été atteints, il est possible d'anticiper les périodes à risque en se référant aux conditions environnementales décrites lors des précédents épisodes (Friend et Franson 1999; US EPA 2012). Dans ce contexte, la surveillance événementielle renforcée devrait être mise en œuvre 10 à 15 jours avant le premier cas documenté de la saison dans une zone connue pour le botulisme, jusqu'à 10 à 15 jours après la fin de la saison de botulisme dans cette même zone (US EPA 2012).

La présence de cadavres dans les zones humides et des conditions météorologiques (température en particulier) propices à la présence d'insectes nécrophages (mouches en particulier) constituent une combinaison de facteurs prépondérants dans l'initiation des flambées de botulisme dans l'avifaune sauvage (Reed et Rocke 1992). Quelle que soit la cause de la mortalité, ces cadavres peuvent initier et perpétuer un épisode de botulisme à travers le cycle cadavre-asticots (Gutiérrez-Arnal et Marín 2024). L'enlèvement systématique et leur destruction (voir plus loin) sont préconisés pour casser ce cycle en réduisant la

consommation des larves d'insectes accumulant la toxine par les oiseaux sains (Reed et Rocke 1992). Selon les conditions écologiques et météorologiques, les cadavres devraient être retirés dans les 36 à 72 h suivant la mort des animaux, délai au bout duquel les asticots sont habituellement présents (Fish, Mitchell, et Barnum 1967; Cliplef et Wobeser 1993). Cependant, la difficulté d'accès de certains sites naturels complique cette opération de ramassage. Par ailleurs, la présence de prédateurs naturels peut être à l'origine d'une dispersion de ces cadavres avant qu'ils aient pu être collectés. A noter que ces prédateurs peuvent se contaminer s'ils consomment ces cadavres. Pour améliorer l'efficacité de la localisation des cadavres, Reynolds et al. (2021) ont montré que l'utilisation de chiens renifleurs permettait une détection plus rapide et plus efficace des cadavres d'oiseaux aquatiques dans les zones humides à végétation dense et inondée.

Il faut souligner que des données sur l'efficacité de l'enlèvement précoce des cadavres d'oiseaux sont limitées à des foyers de botulisme dus aux *C. botulinum* du groupe III, dans l'émergence desquels le rôle de cycle cadavre – asticots est important et bien démontré. En revanche, le rôle des cadavres dans le développement du botulisme de type E, dans lequel l'intervention de poissons (botulisme pisciaire) est prépondérante, n'est ni étudié, ni caractérisé.

L'intérêt de l'enlèvement des cadavres d'oiseaux dans le botulisme C a fait l'objet de plusieurs études, notamment celle d'Evelsizer, Clark, et Bollinger (2010). Ces auteurs ont montré, dans une étude effectuée dans une région de lacs touchés par des épisodes récurrents de botulisme de type C au Canada, que le taux de survie des oiseaux était significativement réduit lorsque la densité des cadavres d'oiseaux augmentait sur le site. Ils ont aussi montré que des canards colverts dans une zone où étaient dénombrés 5 à 11 et plus de 11 cadavres / ha avaient, respectivement, une probabilité d'être atteints de 3,5 et 13 fois supérieure à celle de canards dans une zone sans cadavre. Cependant ces mêmes auteurs ont constaté que la survie des canards dans les zones où les cadavres avaient été éliminés systématiquement n'était pas toujours plus élevée que celle des canards se trouvant dans des zones où aucun effort d'élimination de cadavres n'avait été effectué (Evelsizer et al. 2010).

Il a été en outre suggéré qu'une gestion intégrée des écosystèmes, favorisant la présence d'espèces sauvages nécrophages qui ingèrent les cadavres d'animaux avant que ceux-ci n'entrent en état de putréfaction, pourrait réduire les risques de survenue de foyers de botulisme (Inger et al. 2016). Cependant, le GT ne dispose pas de donnée sur leur influence potentielle dans les zones humides propices à l'émergence de cette maladie.

5.1.1.3. Autres mesures

Une vaccination préventive des canards colvert destinés aux lâchers sur des sites connus comme ayant des épisodes récurrents de botulisme C/D est envisageable (ainsi que celle des appelants).

5.1.2. Mesures curatives

Dans une situation d'émergence de botulisme dans la faune sauvage des mesures curatives en partie similaires aux mesures préventives précédemment citées peuvent être déployées.

5.1.2.1. Actions sur les populations animales

La mesure principale de gestion curative habituellement proposée dès constatation des premiers cas de mortalité dus au botulisme est le ramassage et l'élimination des cadavres de vertébrés et notamment les cadavres d'oiseaux sur le site (Circella et al. 2019; Volponi et al. 2024). L'élimination immédiate des poissons morts visibles sur site peut aussi aider à prévenir l'expansion de l'épisode de botulisme (US EPA 2012).

Indépendamment de son coût, l'application de l'enlèvement des cadavres d'oiseaux disséminés sur un site est en pratique difficile. Aisée pour ceux présents sur les berges ou échoués sur la rive, elle est plus difficile pour ceux flottant ou gisant dans des zones difficilement accessibles, y compris aux bateaux (vasières molles, roselières, zones boisées inondées en été avec un faible niveau d'eau). Un équipement adapté (aéroglisteurs) peut être nécessaire pour mener efficacement ces opérations (Boret et Reeber 2003).

L'enlèvement des cadavres doit être complété par leur destruction. Dans certains états des États-Unis, la préconisation en cas de botulisme est d'enterrer les cadavres à une profondeur d'au moins 60 cm pour décourager les autres animaux de les déterrer, et il est précisé que les cadavres doivent être ensevelis loin de la rive d'un plan d'eau (US EPA 2012). La réglementation française impose, en revanche, que les cadavres soient collectés dans des bacs étanches stockés au froid en attendant leur acheminement et leur destruction dans un établissement d'équarrissage.

L'enlèvement des oiseaux malades est également préconisé (APHA 2019). Si l'état des animaux le permet, il est possible de les transférer dans un centre de soin dédié à la faune sauvage afin de leur prodiguer des soins adaptés (cf. § 3.3.1.6). Pour les oiseaux légèrement affectés, de l'eau fraîche, de l'ombre et une protection contre les prédateurs peut les aider à se remettre de l'intoxication. Dans des circonstances spéciales, comme pour le traitement d'oiseaux en voie de disparition, une antitoxine pour le botulisme peut être administrée (US EPA 2012).

Le déplacement des oiseaux hors d'une zone à risque, par effarouchement ou par aménagement de retenues d'eau qui attirent les oiseaux en dehors de la zone à risque, peut-être une option (US EPA 2012). Cette action pourrait néanmoins favoriser le déplacement d'animaux atteints de botulisme vers d'autres plans d'eau et l'extension de la zone atteinte.

5.1.2.2. Actions sur le milieu

L'élévation des niveaux d'eau sur le site est une des principales mesures à envisager lorsqu'elle est techniquement possible. Par exemple, Son et al. (2018) ont montré que l'élévation du niveau d'eau lors d'un épisode de botulisme autour du réservoir de Namdong à Incheon en Corée du Sud a permis de baisser la température de l'eau et la charge en nutriments dans le réservoir et de limiter l'épisode en cours (Son et al. 2018). Cependant, l'élévation du niveau d'eau n'est pas sans risque car elle peut favoriser la circulation de la bactérie et des toxines dans le système aquatique (APHA 2019). Par ailleurs, dans un contexte croissant de stress hydrique en été dans les hydrosystèmes, cette élévation risque d'être très difficile à mettre en œuvre.

En cas de foyers de botulisme aviaire graves et/ou récurrents ou si un risque élevé est perçu, des mesures plus drastiques et plus coûteuses peuvent être déployées sur certains plans d'eau de taille limitée, des sites urbains ou semi-urbains en particulier, afin d'augmenter

l'oxygénation de l'eau. Le choix des mesures retenues est décidé au cas par cas en fonction du contexte local et de l'impact sur le milieu. Par exemple, les autorités des parcs royaux de Londres, qui ont connu des foyers de botulisme aviaire depuis 1969, ont souligné l'efficacité des mesures suivantes qui ont été appliquées sur les étangs de ce site (APHA 2019) :

- Interdiction d'apporter des matières organiques dans le milieu aquatique, par exemple en suspendant le nourrissage des animaux par le public pendant les périodes de risque élevé ;
- vidange complète des plans d'eau et enlèvement des sédiments (vase, limons...). Cette opération est plus facile dans les écosystèmes artificiels. Il est possible de drainer l'eau de l'écosystème par section en utilisant des barrages, l'eau pompée passe à travers des sacs filtrants spéciaux ;
- identification des zones stagnantes des plans d'eau où les toxines peuvent être concentrées et mise en place des pompes de gros calibre (30 cm de diamètre) pour extraire l'eau des zones stagnantes, la faire circuler sur des blocs ou des pierres pour favoriser son aération avant de la transférer vers d'autres zones du plan d'eau. Des pompes flottantes (qui ont pour fonction d'extraire l'eau des niveaux inférieurs et des zones stagnantes pour la déverser via un flotteur en surface) ont été également utilisées ;
- installation d'aérateurs de bassin immergés. L'air comprimé est libéré à travers des diffuseurs placés au fond des plans d'eau. Ce dispositif favorise le brassage de la colonne d'eau et fournit de l'oxygène aux couches d'eau inférieures.

Il reste évident, comme cela a été déjà mentionné précédemment, que les mesures citées, applicables sans trop de difficultés à des plans d'eau de petite taille (notamment les plans d'eau péri-urbains), sont extrêmement coûteuses à mettre en place dans des plans d'eau de moyenne et grande taille.

5.1.2.3. Mesures de désinfection

Certains pisciculteurs ont l'habitude d'utiliser systématiquement la chaux à chacune des mises en assec de leurs étangs (cf. § 3.1.3). L'épandage de chaux vive est aussi utilisé par certains gestionnaires pour traiter les berges des plans d'eau lors d'épisodes de botulisme, notamment à la suite de découverte de cadavres d'oiseaux (cf. paragraphe 5.3). Bien que cette méthode soit parfois utilisée et ait été considérée utile pour traiter des étangs après un épisode botulique (Gourreau et al. 1986), aucune démonstration de l'efficacité de la chaux sur les spores de *C. botulinum* dans ce contexte n'a été jusqu'ici apportée (Souillard et al. 2020; Anses 2021b). De plus, ce procédé, qui nécessite assèchement et élimination d'une partie des sédiments par pelletage ou par pompage avant d'épandre la chaux vive est difficilement applicable pour une décontamination des plans d'eau de grande taille et connectés au réseau hydrographique. Enfin, il faut considérer que dans le cadre du règlement Biocides, la chaux n'est pas approuvée pour une décontamination du milieu naturel (cf. § 3.1.3).

5.2. Actions engagées dans divers pays pour limiter un épisode avéré de botulisme dans la faune sauvage

Ce paragraphe présente des données issues d'un *workshop* international intitulé « *Avian botulism in wildlife : a One Health Perspective* » organisé dans le cadre du projet « Approche One Health pour l'évaluation du risque lié au botulisme dans l'avifaune sauvage ». Ce *workshop* a été organisé en octobre 2022 (financement Anses et MedVetNet) et comprenait 17 présentations réparties dans quatre sessions. Les mesures préventives et curatives présentées au cours de ce *workshop* sont rapportées ci-dessous. Il n'existe pas de recommandations officielles et les épisodes sont globalement gérés au cas par cas. Par exemple, aux Pays-Bas, il n'y a pas de gestion sur le plan national, chaque municipalité et *water board* a son propre protocole en cas d'épisode de botulisme.

Les actions décrites ne diffèrent pas de celles listées dans le chapitre précédent, mais peuvent être assimilées à des retours d'expérience et illustrent un choix fait au cas par cas en fonction des sites et pays concernés.

Les épisodes de botulisme en faune sauvage sont décrits lors des saisons chaudes et généralement lorsque les niveaux d'eau sont bas. Au cours des présentations, la concomitance d'épisodes de botulisme et de blooms de cyanobactéries a été rapportée à plusieurs reprises. Il s'agit d'une observation à mettre en relation possiblement avec le fait que les cyanobactéries consomment l'oxygène du milieu aqueux et créent ainsi des conditions anaérobies qui pourraient être favorables à la croissance de *C. botulinum*. Pour autant aucune étude n'a démontré de lien systématique entre les deux phénomènes.

Dans ce paragraphe, sont présentées les actions destinées à prévenir ou limiter ces épisodes.

5.2.1. Mesures préventives

Les mesures préventives ayant fait l'objet de présentations sont le suivi des températures, la gestion de l'eau et le ramassage des cadavres.

La surveillance de la température de l'air ou de l'eau et l'identification d'un seuil critique à partir duquel un risque accru de botulisme pourrait être détecté serait un outil très utile pour les gestionnaires. Une étude menée en Australie (présentation de Kate Brandis)⁷⁹ sur la température de l'air n'a pas permis d'identifier une température seuil à partir de laquelle un épisode de botulisme démarre mais celle-ci a permis de montrer une différence significative de 3 °C au niveau des températures cumulées sur une période de 112 jours en amont d'un épisode de botulisme par rapport au cumul sur une période similaire en absence d'épisodes. Cet outil pourrait servir de seuil d'alerte pour anticiper les épisodes de botulisme.

L'intérêt de la gestion des niveaux d'eau a été précédemment souligné. Il peut être illustré par des actions mises en place en Belgique (présentation de A. van Goethem)⁸⁰ à la suite d'un épisode de botulisme C/D sur des étangs en réseau. Ceux-ci ont été vidangés et nettoyés lors de l'hiver qui a suivi l'épisode de botulisme puis laissés vides pendant deux mois. Par la suite, le système de transfert d'eau entre les étangs a été modifié. Un système de transfert d'eau du fond de l'étang en amont vers l'étang suivant en aval a été mis en place en vue de transférer

⁷⁹ « *Avian-botulism risk in waterbird breeding colonies and implications for environmental water management.* »

⁸⁰ « *A case report of a massive botulism type C/D outbreak in avifauna in Belgium.* »

l'eau la plus éloignée de la surface et donc la moins chaude vers l'étang en aval. Par ailleurs, pour les périodes considérées à risque (fortes températures, sécheresse), un système d'oxygénation de l'eau des étangs à l'aide de pompes a été installé (80 m³ / h à trois mètres de profondeur). Aucun épisode de botulisme n'a été observé l'été suivant après ces interventions.

Le ramassage des cadavres est enfin une pratique communément mise en place dans de nombreux pays dans les zones avec historique de botulisme pour essayer de prévenir, limiter la présence de conditions favorables à la croissance de *C. botulinum*. Aux USA, dans la région des Grands Lacs, des kits sont distribués aux volontaires (gants, sacs plastiques pour collecter les cadavres). Des congélateurs sont disponibles pour stocker les cadavres avant envoi vers l'équarrissage. Pour les personnes autres (non identifiées officiellement comme volontaires), des panneaux informent de ne pas toucher les oiseaux.

5.2.2. Mesures curatives

Les mesures curatives rapportées dans la plupart des pays (Australie, USA, Pays-Bas, Belgique, Argentine) au cours du *workshop* sont essentiellement celles du renforcement du ramassage des cadavres. Les intervenants ont souligné cependant, en fonction des zones concernées et de l'ampleur de l'épisode, que le ramassage des cadavres peut se révéler très compliqué à mettre en œuvre.

L'augmentation du niveau d'eau, si la zone concernée le permet, est une mesure qui a été évoquée aux Pays-Bas comme mesure curative pour diluer les spores de *C. botulinum* et rendre l'environnement moins favorable à la croissance de *C. botulinum*.

5.3. Actions engagées pour limiter un épisode avéré de botulisme dans la faune sauvage en France

Bien qu'il soit une maladie réglementée, aucune mesure de police sanitaire n'est définie pour intervenir en cas de confirmation d'un épisode de botulisme dans les sites naturels.

Une enquête a été réalisée du 3 avril au 24 mai 2024 par le GT pour documenter les actions mises en œuvre et recueillir les retours d'expérience des gestionnaires de plans d'eau lorsque des cas de botulisme sont déclarés dans la faune sauvage. Un questionnaire a été envoyé aux gestionnaires des plans d'eau pour lesquels un ou plusieurs épisodes de botulisme aviaire ont déjà été documentés durant les cinq dernières années. Ces plans d'eau ont été identifiés sur la base des données du LNR botulisme aviaire. Différentes questions ont été abordées, notamment pour connaître le site concerné, les activités humaines pratiquées sur le site, le contexte épidémiologique et les actions entreprises pour gérer le botulisme. De plus, des auditions ont été réalisées avec trois gestionnaires volontaires (cf. Tableau 1) pour approfondir les informations concernant les paramètres influençant la nature et l'intensité des risques (ex : activités humaines), les différentes modalités de gestion de la masse d'eau, les difficultés concrètes de cette gestion de crise sanitaire et les potentielles améliorations à apporter.

Dans le cadre de cette enquête, six personnes impliquées dans la gestion de plans d'eau ayant connu des épisodes de botulisme au cours des cinq dernières années ont été sollicitées et ont acceptés de répondre à notre questionnaire. Afin de ne pas stigmatiser les plans d'eau

ayant connu des épisodes de botulisme, l'identité des sites faisant l'objet de cette enquête est maintenue confidentielle. Le

Tableau 11 ci-dessous reprend de manière synthétique les caractéristiques des sites investigués (numérotés de 1 à 6), la nature des activités humaines pratiquées sur ces zones et les mesures de gestion mises en œuvre.

Ces résultats permettent de conclure que, quels que soient les sites considérés, les mesures de gestions sont limitées. Parmi les mesures mises en œuvre, le ramassage des cadavres et la collecte des animaux malades sont systématiquement appliqués. Parfois les cadavres ramassés font l'objet d'un comptage, permettant d'évaluer l'impact de la maladie sur les diverses espèces présentes sur le site, notamment sur les espèces protégées ou en voie de disparition.

La possibilité de modifier le niveau du plan d'eau, soit en temps de crise, soit pour prévenir l'épisode, est rapportée sur deux sites.

Enfin, le chaulage des rives du plan d'eau a été réalisé sur un des sites concernés par l'enquête (site semi-urbain voué aux activités de pêche, randonnée et promenade) durant l'épisode de botulisme. Le GT rappelle qu'aucune démonstration de l'efficacité de la chaux sur les spores de *C. botulinum* dans ce contexte n'a été jusqu'ici apportée.

Tableau 11. Caractéristiques de six plans d'eau douce régulièrement touchés par des épisodes de botulisme aviaire et mesures de gestion mises en œuvre pour gérer ces épisodes.

Plan d'eau	1	2	3	4	5	6
Nature du plan d'eau	Étang (eaux douces)	Étang (eaux douces)	Marais (eaux douces)	Lac & Marais (eaux douces)	Lac & Marais (eaux douces)	Étang (eaux douces)
Surface en eau	3 ha	118 ha	140 ha	2 200 ha (en été), 6 300 ha (en hiver)	650 ha	56 ha
Environnement du plan d'eau	Semi-urbain	Forestier Agricole	Semi-urbain Forestier Agricole	Semi-urbain Forestier Agricole	Agricole	Agricole
Activités humaines pratiquées autour/sur le plan d'eau	Pêche Randonnée et Promenade	Pisciculture Observations naturalistes (ornithologie notamment)	Randonnée et Promenade Observations naturalistes (ornithologie notamment)	Chasse Pêche Randonnée et promenade Observations naturalistes (ornithologie notamment) Élevage (sur prairies inondables)	Chasse Pêche Pisciculture Observations naturalistes (ornithologie notamment)	Chasse Pêche Randonnée et Promenades Observations naturalistes (ornithologie notamment)
Nombre d'épisodes durant les cinq dernières années	2	4	4-5	4	5	2

Plan d'eau	1	2	3	4	5	6
Mesures mises en œuvre pour gérer un épisode de botulisme en cours	Chaulage des rives Ramassage des cadavres d'oiseaux Ramassage des cadavres d'autres animaux Comptage des cadavres ou oiseaux moribonds Interdiction ou limitation d'accès au site Interdiction de la pêche Interdiction de la consommation de poissons	Ramassage des cadavres d'oiseaux Ramassage des cadavres d'autres animaux Comptage des cadavres ou oiseaux moribonds Collecte des oiseaux (et autres espèces) moribonds	Élévation du niveau d'eau Ramassage des cadavres d'oiseaux Ramassage des cadavres d'autres animaux Comptage des cadavres ou oiseaux moribonds Interdiction ou limitation d'accès au site	Gestion raisonnée des niveaux d'eau Ramassage des cadavres d'oiseaux Ramassage des cadavres d'autres animaux Comptage des cadavres ou oiseaux moribonds Collecte des oiseaux (ou autres espèces) moribonds	Ramassage systématique des oiseaux morts de fin juin à fin août (plusieurs passages par semaine) Ramassage des cadavres d'oiseaux Ramassage des cadavres d'autres animaux Comptage des cadavres ou oiseaux moribonds	Ramassage des cadavres d'oiseaux Ramassage des cadavres d'autres animaux

6. Incertitudes

Bien qu'en partie réduite par la collégialité de la démarche d'analyse qualitative du risque, la part d'incertitudes des évaluations effectuées pour répondre aux questions du pétitionnaire reste importante. L'analyse effectuée pour évaluer le risque en santé humaine dans le contexte d'un épisode animal de botulisme E ou C/D survenant sur le site d'un plan d'eau contaminé souffre en effet du caractère lacunaire des données disponibles, tant sur la présence du danger (rareté des données quantitatives permettant d'apprécier la dangerosité des sources identifiées) que sur l'exposition à ce danger (absence de données précises chez les humains sur des doses toxiques ou infectieuses). À cet égard, si ce travail a pu bénéficier des premiers résultats des investigations menées ces dernières années sur des plans d'eau douce en France, les données recueillies sont encore très fragmentaires.

Concernant, la maîtrise des dangers lors de la préparation des plats à base de poisson ou de gibier, notamment par la cuisson, le GT a été confronté à un manque de données de thermobactériologie (spores et cellules végétatives) et de comportement à la chaleur (toxine) des types C, D, C/D et D/C, objets de la présente saisine. De plus, le GT a mis en évidence une vraie difficulté d'accès à une information fiable sur les températures atteintes à cœur des parties consommées au regard des différents modes de préparation et températures de cuisson des produits issus de la chasse et de la pêche.

Les experts du GT ont listé les principales sources d'incertitudes dans le Tableau 12 ci-dessous en suivant les recommandations du GT ACCMER de l'Anses.

Tableau 12. Principales sources d'incertitudes et prise en compte dans l'expertise.

Volet de l'expertise	Origine (niveau 1)	Origine (niveau 2)	Description	Modalité de prise en compte	Impact de l'incertitude sur le résultat de l'expertise
Survenue de botulisme de type E ou de sous-type C/D chez les humains en lien avec les activités autour d'un plan d'eau contaminé	Méthode	Qualité et quantité des données d'entrée	Absence de données chez les humains sur des doses toxiques ou infectieuses. Peu d'études sur la présence de <i>C. botulinum</i> dans l'environnement des étangs. Peu d'études sur le transfert de <i>C. botulinum</i> de l'environnement vers les poissons ou les oiseaux. Rareté des données quantitatives permettant d'apprécier la dangerosité des sources identifiées. Faible (voire absence de) distinction dans les résultats entre les types C, D, mosaïque C/D, D/C.	Recherche bibliographique conduite dans les rapports précédents + Actualisation par le GT. Prise en compte des résultats de l'étude menée par des équipes de l'Anses en collaboration avec l'OFB et le CNR (Projet AMI botulisme faune sauvage). Évaluation qualitative du risque sur la base des données disponibles et l'avis des experts du GT.	Non caractérisable
Survenue de botulisme de type E ou de sous-type C/D en lien avec la préparation et la consommation du gibier et du poisson	Contexte	Périmètre de l'expertise	Le GT ne peut pas évaluer le risque de botulisme alimentaire en raison du manque de données quantitatives sur la contamination initiale des matières premières (prises), ainsi que sur les pratiques de conservation et de consommation des chasseurs et pêcheurs.	Le GT a évalué l'effet de certains modes de transformation et de conservation des aliments sur l'évolution de <i>C. botulinum</i> afin de déterminer les conditions et les mesures nécessaires pour maîtriser le danger et donc le risque.	Non caractérisable
	Méthode	Qualité et quantité des données d'entrée	Peu de données relatives à la présence de <i>C. botulinum</i> C/D et E (bactérie et toxine) dans les tissus animaux (poissons, gibier d'eau) en particulier pour des animaux sans signes cliniques. Manque de données récentes sur la prévalence de <i>C. botulinum</i> de types C, D, mosaïques C/D et D/C dans les DAOA (poissons, gibier d'eau). Manque de données récentes sur l'impact des procédés de préservation des aliments sur <i>C. botulinum</i> de types C, D, mosaïques C/D et D/C. Manque de données récentes de comportement à la chaleur des toxines des types de <i>C. botulinum</i> objets de la présente saisine. Difficulté d'accès à une information fiable sur les températures atteintes à cœur des parties consommées au regard des différents modes et températures de cuisson.	Évaluation qualitative de la probabilité de présence du danger dans les tissus sur la base des données disponibles et l'avis des experts du GT. Évaluation qualitative de l'effet de certains modes de transformation et de conservation des aliments sur l'évolution de <i>C. botulinum</i>. Couple temps de cuisson / température retenu pour l'inactivation totale des toxines C et D : 90 °C / 2 min (supérieur à ce qui est préconisé pour les toxines de types A et B 70 °C / 2 min).	Non caractérisable

Volet de l'expertise	Origine (niveau 1)	Origine (niveau 2)	Description	Modalité de prise en compte	Impact de l'incertitude sur le résultat de l'expertise
Mesures de gestion prises pour limiter un épisode avéré de botulisme dans la faune sauvage	Méthode	Qualité et quantité des données d'entrée	Manque de données sur les mesures de gestion sanitaires et environnementales du botulisme déclaré dans la faune sauvage, appliquées sur le terrain. Manque de données sur les facteurs de risque (écologiques et anthropiques) et mécanismes d'émission du danger et d'exposition des oiseaux conduisant à la survenue d'un épisode de botulisme aviaire en faune sauvage. Pathogénèse du botulisme aviaire : la dose de <i>C. botulinum</i> ou toxine nécessaire pour initier un foyer, les conditions propices à la croissance de la bactérie <i>in vivo</i> et à la production de toxines sont inconnues.	Diffusion d'un questionnaire pour recueillir les retours d'expérience des gestionnaires de plans d'eau lorsque des cas de botulisme sont déclarés dans la faune sauvage + Auditions de trois gestionnaires volontaires. Évaluation qualitative sur la base des publications disponibles et l'avis des experts du GT.	Non caractérisable

7. Conclusions et recommandations du groupe de travail

Maladie neuro-paralytique provoquée par l'action d'exotoxines (neurotoxines botuliques ou BoNTs) produites par des bactéries telluriques du genre *Clostridium* représentées principalement par *C. botulinum*, le botulisme affecte les humains et de nombreuses espèces animales domestiques ou sauvages, mammifères, oiseaux et poissons.

Plusieurs rapports de l'Anses ont été dernièrement consacrés à cette maladie chez les animaux de rente (bovins et volailles) et ses implications en santé humaine. Le présent rapport porte sur le botulisme dans l'avifaune sauvage et les risques en santé humaine induits par les épisodes botuliques observés en France chez des oiseaux d'eau sur des plans d'eau douce lentique (étangs, lacs) en zones humides, ainsi que sur l'impact attendu des moyens de gestion destinés à limiter les épisodes de botulisme dans l'avifaune sauvage pour réduire ces risques.

Le botulisme est actuellement en France une maladie animale réglementée (arrêté ministériel du 3 mai 2022), y compris chez les oiseaux sauvages, chez lesquels l'importance des mortalités qu'elle provoque peut mettre en péril la survie de certaines espèces et représenter une menace pour la biodiversité. Les données sur le botulisme chez ces oiseaux sauvages en France sont principalement issues du réseau SAGIR (surveillance événementielle des mortalités) et établies après analyse des échantillons collectés par le LNR botulisme aviaire, les laboratoires vétérinaires disposant des méthodes ou le CNR des bactéries anaérobies et du botulisme. Ces données (182 événements recensés par le réseau SAGIR en 10 années, de 2014 à 2023) soulignent la survenue d'épisodes botuliques réguliers (parfois associés à une mortalité élevée) au sein de l'avifaune sauvage et une répartition sur tout le territoire hexagonal. De nombreuses espèces sont touchées, les plus régulièrement affectées étant les anatidés, avec une prédominance de cas chez le canard colvert. Les cas de botulisme identifiés chez ces oiseaux sont de types ou sous-types C, D, C/D, D/C et E, mais plus de 90 % sont causés par le sous-type mosaïque C/D. Bien que *C. botulinum* E et *C. botulinum* C/D aient été concomitamment détectés à quelques reprises chez des oiseaux morts de botulisme, sans que l'implication de l'une ou l'autre toxine n'ait pu être déterminée, le type E n'a été identifié comme spécifiquement responsable d'un épisode botulique qu'à une seule occasion (mortalité de canards colvert et de cygnes tuberculés sur le site d'un plan d'eau ouvert à la promenade et la pêche de loisir en Côte-d'Or en 2023) sur la période considérée.

Des études récentes, menées par des équipes de l'Anses en collaboration avec l'OFB et le CNR dans plusieurs étangs de l'ouest de la France connaissant des épisodes récurrents de botulisme aviaire, ont révélé la présence et la persistance dans les sédiments et au niveau des berges de *C. botulinum* C/D et/ou E. Ces deux toxinotypes étaient simultanément détectés dans la majorité des échantillons issus de ces sites. Il est donc surprenant de constater que *C. botulinum* E, bien que présent dans les sites étudiés, ne soit que rarement, contrairement à *C. botulinum* C/D et sans que l'on puisse l'expliquer, responsable des épisodes botuliques observés chez les oiseaux sauvages. De plus, aucune mortalité attribuable à *C. botulinum* E, incriminé notamment en Amérique-du-Nord et en Europe septentrionale dans des épisodes de botulisme pisciaire, n'a été signalée sur des poissons (d'élevage ou sauvages) en étang en France.

7.1. Évaluation de risque de botulisme

Le groupe de travail a procédé à l'évaluation des risques de botulisme encourus par des humains éventuellement exposés, soit en fréquentant un plan d'eau au cours d'un épisode de botulisme révélé par la mortalité d'oiseaux sauvages, soit en consommant du gibier d'eau ou des poissons prélevés sur le site au cours de cet événement. Cette évaluation correspond aux réponses aux questions 1 et 2 de la saisine :

« [question 1.] Quel est le risque pour la santé publique lors de la manipulation de ces animaux [ou] lors de leur consommation ? Il est à noter que la recherche de botulisme dans l'avifaune n'est pas systématique (gibier sauvage) mais [n'est] mise en œuvre que lors de mortalités groupées ;

[question 2.] La présence de cadavres potentiellement contaminés par des spores de *C. botulinum* du type C, D, C/D et E au bord des plans d'eaux représente-t-elle un risque pour la santé publique liée à la consommation de poissons ou lors d'activités de loisirs ? »

Considérant les données de prévalence présentées, le risque étudié est la survenue de cas de botulisme humains, soit de sous-type C/D, soit de type E. Pour chaque type ou sous-type, le danger est représenté par la bactérie (sous forme végétative ou sporulée) et surtout la neurotoxine, dont le type ou sous-type conditionne le développement ou non du botulisme. A cet égard, il faut rappeler que le risque zoonotique du sous-type C/D est unanimement considéré comme négligeable en santé humaine, son faible impact (comme dans le cas des types et sous-types C, D et D/C) étant supposé lié au faible pouvoir toxique de la toxine lorsqu'elle est ingérée. Ce n'est pas, en revanche, le cas du type E, qui, bien que rarement détecté chez l'humain en France, est néanmoins la troisième cause de botulisme alimentaire (après les types A et B) dans le monde.

Les activités à risque ciblées dans cette étude sont essentiellement les activités de loisir, représentées par la chasse, la pêche, le tourisme de nature (promenades, observations d'oiseaux, etc.) et, dans certains plans d'eau, la baignade et autres activités nautiques. Le risque étudié en rapport avec la consommation de gibier d'eau ou de poissons est celui qui découle de la chasse et de la pêche de loisir. Le risque lié à la collecte des cadavres dans un cadre professionnel, principal moyen préconisé pour limiter les épisodes de botulisme chez les oiseaux, a été aussi analysé.

Limitée par le manque de données quantitatives disponibles (concentrations du danger dans les différentes matrices non déterminées, méconnaissance des doses nécessaires au développement de la maladie, etc.) et des incertitudes rencontrées pour qualifier le risque, l'analyse a été abordée de façon qualitative et les évaluations reposent en grande partie sur des avis rendus collectivement par les experts du GT.

Dans une première étape, le GT a considéré l'hypothèse d'un plan d'eau contaminé dans lequel se développe un épisode botulique pouvant être soit de sous-type C/D, soit de type E, et procédé, pour chacun de ces deux scénarios à une évaluation qualitative de la probabilité de présence du danger dans les matrices environnementales du site (sédiment et eau) ainsi que les téguments et tissus du gibier d'eau et des poissons. Chez ces espèces, la probabilité de présence varie en fonction du degré de contamination du milieu dans lequel elles évoluent et de leur statut clinique (animaux porteurs asymptomatiques cutanés et/ou digestifs, en incubation, présentant des signes cliniques). Le niveau de présence le plus élevé est considéré chez les oiseaux, poissons (et autres espèces animales, le ragondin par exemple) cliniquement atteints de botulisme et surtout dans leur cadavre, en particulier en saison

chaude lorsqu'il est en décomposition. Dans le cas des poissons, considérant leur faible sensibilité aux toxines C, D, C/D ou D/C, seule a été prise en compte l'éventualité d'un botulisme de type E. Le GT est parti en outre du principe que le gibier chassé et les poissons pêchés pour être consommés avaient un comportement normal et ne présentaient aucun signe visible de maladie, tout animal malade étant alors rejeté.

Dans une seconde étape, le GT a examiné les modalités de contamination humaine en fonction des sources précédemment désignées (Figure 9) et traité, d'une part l'exposition sur site contaminé, d'autre part l'exposition consécutive à la préparation et la consommation de poissons et gibiers collectés dans le site contaminé.

Le type d'activité sur site conditionne le mode et le degré d'exposition aux sources environnementales (eau ou sédiment) ou animales précédemment mentionnées. Le bilan de l'analyse conduite par le GT fait apparaître, quel que soit le toxinotype de *C. botulinum* en cause (C/D ou E), un risque très limité pour les usagers du site. L'événement sur site le plus à craindre, observable quelle que soit l'activité, est l'introduction de spores botuliques dans une plaie préexistante ou lors d'une blessure survenant lors d'un contact avec une composante du milieu contaminé (eau ou sédiment) ou en saisissant sans précaution un poisson ou un oiseau porteur, malade ou leur cadavre. Toutefois les blessures éventuellement occasionnées dans les contextes évoqués, en général superficielles, sont peu compatibles avec le développement d'un cas de botulisme par blessure, dont aucun cas n'a été rapporté dans la littérature scientifique au niveau mondial avec *C. botulinum* C ou C/D, et une seule fois (mais dans un contexte différent) avec *C. botulinum* E. Ce risque peut être en outre maîtrisé par le respect de consignes simples, telles que le port de vêtements de protection pour les personnes les plus exposées et l'application des mesures d'hygiène individuelles (voir le Tableau 10).

Après action de chasse ou de pêche, la situation à risque envisagée par le GT est celle de la consommation de préparations (de poissons ou de gibier à plumes amenés par le pêcheur ou le chasseur) crues ou cuites à un niveau ne permettant pas l'inactivation complète du danger (spores et toxines des *C. botulinum* sous-type C/D et type E) puis mal conservées (non-respect de la chaîne du froid et/ou de la durée de conservation des produits). L'application effective des bonnes pratiques de conservation et cuisson permet de maîtriser la croissance et toxinogénèse de *C. botulinum* dans les aliments. Cependant, un point de vigilance doit être porté pour la consommation crue (ceviche, marinade...) qui doit être évitée en cas de suspicion de présence de cas de botulisme dans le plan d'eau où ont été pêchés les poissons consommés.

7.2. Recommandations pour limiter un épisode de botulisme et le risque pour la santé humaine

Les experts du GT ont évalué les mesures pouvant limiter les épisodes de botulisme et leurs conséquences en santé publique afin de répondre à la question 3 de la saisine :

« [question 3.] A ce jour, les recommandations données pour limiter l'épisode animal sont le ramassage des cadavres ainsi que le chaulage de la zone où les animaux ont été trouvés. Quelles autres préconisations peuvent être apportées, notamment auprès des chasseurs pour limiter [le] risque ? »

Une revue des mesures de gestion éventuellement applicables sur le terrain pour prévenir ou limiter les épisodes de botulisme dans l'avifaune sauvage est présentée dans le Chapitre 5.

Durant les périodes critiques (de mi-juillet à début octobre) dans les sites à risque élevé de botulisme ayant déjà rencontré des épisodes de botulisme, les mesures les plus couramment documentées et appliquées, associent un suivi régulier des populations d'oiseaux, la recherche des causes de mortalité éventuellement détectées, ainsi que la collecte et la destruction des cadavres d'oiseaux. D'autres actions susceptibles de limiter le développement de l'épizootie sont également envisageables, par exemple la régulation du niveau d'eau. Cependant, ces actions ne peuvent être envisagées que sur la base d'une très bonne connaissance du site ou d'expériences acquises lors d'épisodes de botulisme antérieurs. Elles ne peuvent relever que d'une gestion au cas par cas, s'appuyant sur une enquête pour identifier les causes, et d'une analyse bénéfice-risque pour l'environnement. En revanche, le chaulage des zones où les cadavres ont été trouvés, dont l'efficacité est non documentée dans ce contexte et n'ayant pas fait l'objet d'une demande d'autorisation dans le cadre du règlement Biocides (règlement (UE) N° 528/2012), n'est pas recommandé par le GT.

Considérant les difficultés rencontrées pour prévenir ou limiter les épisodes de botulisme C/D ou E affectant la faune sauvage dans les espaces naturels, et tout en rappelant qu'aucun cas de botulisme humain n'a été détecté jusqu'à présent en France dans le contexte évoqué, les experts recommandent :

concernant les actions à mettre en place pour limiter les épisodes de botulisme dans la faune sauvage de :

- maintenir ou renforcer la surveillance du botulisme dans la faune sauvage en cas de mortalités groupées. À noter que celle-ci peut être facilitée par le maintien de l'inscription de cette maladie dans la liste des maladies animales réglementées d'intérêt national. Le GT rappelle que la mise en pratique de cette surveillance est actuellement limitée par la problématique de prise en charge financière des analyses ;
- rappeler aux gestionnaires de plans d'eau, l'importance du suivi de la mortalité et de sa cause et l'importance de l'enlèvement et de la destruction des cadavres (de préférence par équarrissage) dans le cadre de la gestion préventive et curative des épisodes de botulisme ;
- sensibiliser les usagers des plans d'eau à l'existence du botulisme dans les zones humides et à ses principales manifestations dans la faune sauvage afin qu'ils puissent contribuer le plus efficacement possible à la surveillance ;
- inclure dans les plans de gestion des sites dans lesquels des épisodes de botulisme sont régulièrement observés, un suivi et un enregistrement des paramètres hydrologiques et/ou écologiques intervenant dans l'émergence du botulisme (voir Chapitre 5) ;

concernant les actions visant à préserver la santé publique à mettre en place lors d'un épisode de botulisme dans la faune sauvage de :

- informer les usagers des sites de la survenue d'un foyer, des risques encourus et des mesures à respecter pour les prévenir (Tableau 9) ;
- sensibiliser les chasseurs et les pêcheurs aux bonnes pratiques relatives à la conservation et la préparation des aliments pour maîtriser le risque de botulisme alimentaire (voir Tableau 9) ;

- rappeler aux personnes participant à la collecte des cadavres d'animaux (poissons, oiseaux, mammifères) de la nécessité du port d'équipements de protection individuelle.

7.3. Autres recommandations du GT

En matière de recherche scientifique, les experts recommandent les actions suivantes :

- poursuivre les études portant sur l'identification des facteurs de risque écologiques et anthropiques et des mécanismes d'émission du danger et d'exposition des oiseaux conduisant à la survenue d'un épisode de botulisme aviaire en faune sauvage. En particulier, comprendre la cinétique de germination, multiplication, sporulation et toxinogénèse des souches de sous-type C/D et de type E dans le tube digestif des oiseaux, notamment en relation avec leur alimentation, leur microbiote digestif et les conditions environnementales ;
- investiguer les sites associés aux épisodes de botulisme E dans l'avifaune sauvage, afin de mieux comprendre les conditions favorables à la croissance de *C. botulinum* E et ainsi mieux évaluer les risques en santé humaine qui en découlent ;
- élargir les analyses à d'autres espèces que les oiseaux (par exemple poissons, invertébrés et mammifères semi-aquatiques) et étudier leur rôle possible dans les épisodes de botulisme aviaire ;
- évaluer les effets des lâchers de gibiers vaccinés contre le botulisme sur le risque de dissémination de la bactérie et dans la prévention des épisodes de botulisme ;
- investiguer davantage les modalités d'inactivation thermique des spores et toxines des différents types de *C. botulinum* ou de bactéries modèles fiables.

Date de validation du rapport d'expertise collective par le groupe de travail « botulisme faune sauvage » : le 1^{er} avril 2025.

Date de validation du rapport d'expertise collective par le comité d'experts spécialisé « Santé et Bien-Etre des Animaux » : le 29 avril 2021

8. Bibliographie

- ACMSF. 2020. « Advisory committee on the microbiological safety of food - Subgroup on non-proteolytic *Clostridium botulinum* and vacuum and modified atmosphere packaged foods ». Final report, 20 p. https://acmsf.food.gov.uk/sites/default/files/acmsf-vpmap-subgroup-report_1.pdf.
- Adams, S. G., F. M. Conly, C. L. Gratto-Trevor, K. J. Cash, et T. Bollinger. 2003. « Shorebird use and mortality at a large canadian prairie lake impacted by botulism ». *Waterbirds* 26 (1) : 13-25. [https://doi.org/10.1675/1524-4695\(2003\)026\[0013:SUAMAA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1675/1524-4695(2003)026[0013:SUAMAA]2.0.CO;2).
- Afssa. 2002. « Botulisme d'origine aviaire et bovine ». Maisons-Alfort : Afssa, 82 p. <https://www.anses.fr/fr/system/files/SANT-Ra-Botulisme.pdf>.
- Afssa. 2009. « Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur un projet d'arrêté fixant des mesures techniques et administratives relatives à la lutte contre le botulisme aviaire ». Maisons-Alfort : Afssa, 9 p. <https://www.anses.fr/fr/system/files/SANT2008sa0334.pdf>.
- AGRESTE. 2021. « Chiffres & Données. Enquête aquaculture 2020 ». N° 16 : 68 p. https://agreste.agriculture.gouv.fr/agreste-web/download/publication/publie/Chd2116/cd2021-16_Aqua2020.pdf.
- Allison, M. J., S. E. Maloy, et R. R. Matson. 1976. « Inactivation of *Clostridium botulinum* toxin by ruminal microbes from cattle and sheep ». *Applied and Environmental Microbiology* 32 (5) : 685-88. <https://doi.org/10.1128/aem.32.5.685-688.1976>.
- Anniballi, F., A. Fiore, C. Löfström, H. Skarin, B. Auricchio, C. Woudstra, L. Bano, et al. 2013. « Management of animal botulism outbreaks : from clinical suspicion to practical countermeasures to prevent or minimize outbreaks ». *Biosecurity and Bioterrorism : Biodefense Strategy, Practice, and Science*, 11 Supplement 1 (septembre) : S191-9. <https://doi.org/10.1089/bsp.2012.0089>.
- Anses. 2017a. « Avis du 14/10/16 révisé le 08/03/17 de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif aux procédés efficaces de désinfection des parcours en exploitations de volailles ». Maisons-Alfort : Anses, 25p. <https://www.anses.fr/fr/system/files/SABA2016SA0196.pdf>.
- Anses. 2017b. « Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à la troisième étude individuelle nationale des consommations alimentaires (Etude INCA3) ». Saisine n° 2014-SA-0234. Maisons-Alfort : Anses, 24 p. <https://www.anses.fr/fr/system/files/NUT2014SA0234Ra.pdf>.
- Anses. 2020a. « Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à l'actualisation de l'évaluation des risques liés à la présence de cyanobactéries et leurs toxines dans les eaux destinées à l'alimentation, les eaux de loisirs et les eaux destinées aux activités de pêche professionnelle et de loisir ». Saisines n°2015-SA-0207 et n°2016-SA-0165. Maisons-Alfort : Anses, 51 p. <https://anses.hal.science/hal-03266191>.
- Anses. 2020b. « Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments : "*Clostridium botulinum*, *Clostridium neurotoxinogènes*" ». Maisons-Alfort : Anses, 5 p. <https://www.anses.fr/fr/system/files/BIORISK2016SA0074Fi.pdf>.
- Anses. 2021a. « *Clostridium botulinum* : mise à jour des connaissances sur les différentes formes des types C, D, mosaïque C/D et D/C et E ». Saisines n°2019-SA-0112 ; n°2019-SA-0113 ; n°2019-SA-0114 ; n°2019-SA-0115. Maisons-Alfort : Anses, 174 p. <https://hal-anses.archives-ouvertes.fr/anses-03674557>.
- Anses. 2021b. « Avis complété de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à l'évaluation du risque relatif à l'enfouissement de cadavres issus d'animaux d'élevage et/ou de la faune sauvage ». Saisine n°2020 - SA-0011. Maisons-Alfort : Anses, 30 p. https://www.anses.fr/fr/system/files/SABA2020SA0011Ra_0.pdf.

- Anses. 2021c. « Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à l'évaluation des risques en appui des mesures de gestion de produits dans la filière bovine, lors de suspicion et de confirmation de cas de botulisme ». Saisine n°2019-SA-0112. Maisons-Alfort : Anses, 12 p. <https://www.anses.fr/en/system/files/BIORISK2019SA0112Ra-1.pdf>
- Anses. 2022a. « Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à l'évaluation des risques en appui des mesures de gestion de produits et sous-produits animaux dans la filière avicole, lors de suspicion et de confirmation de cas de botulisme ». Saisine n°2019-SA-0114. Maisons-Alfort : Anses, 13 p. <https://www.anses.fr/fr/system/files/BIORISK2019SA0114Ra-1.pdf>.
- Anses. 2022b. « Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à l'évaluation des risques relatifs aux mesures de décontamination et de gestion des sous-produits animaux lors des cas de botulisme bovin et aviaire ». Saisine n°2019-SA-0113. Maisons-Alfort : Anses, 20 p. <https://www.anses.fr/fr/system/files/BIORISK2019SA0114Ra-1.pdf>.
- Anza, I., D. Vidal, J. Feliu, E. Crespo, et R. Mateo. 2016. « Differences in the vulnerability of waterbird species to botulism outbreaks in Mediterranean wetlands : an assessment of ecological and physiological factors ». *Applied and Environmental Microbiology* 82 (10) : 3092-99. <https://doi.org/10.1128/aem.00119-16>.
- Anza, I., D. Vidal, C. Laguna, S. Díaz-Sánchez, S. Sánchez, A. Chicote, M. Florín, et R. Mateo. 2014. « Eutrophication and bacterial pathogens as risk factors for avian botulism outbreaks in wetlands receiving effluents from urban wastewater treatment plants ». *Applied and Environmental Microbiology* 80 (14) : 4251-59. <https://doi.org/10.1128/aem.00949-14>.
- APHA. 2019. « Avian botulism in UK wild waterbirds ». The Animal and Plant Health Agency, 7 p.
- Arimitsu, H., J.-C. Lee, Y. Sakaguchi, Y. Hayakawa, M. Hayashi, M. Nakaura, H. Takai, et al. 2004. « Vaccination with recombinant whole heavy chain fragments of *Clostridium botulinum* Type C and D neurotoxins ». *Clinical and Vaccine Immunology* 11 (3) : 496-502. <https://doi.org/10.1128/CDLI.11.3.496-502.2004>.
- Arnon, S. S., R. Schechter, T. V. Inglesby, D. A. Henderson, J. G. Bartlett, M. S. Ascher, E. Eitzen, et al. 2001. « Botulinum toxin as a biological weapon : medical and public health management ». *JAMA* 285 (8) : 1059-70. <https://doi.org/10.1001/jama.285.8.1059>.
- Artin, I., P. Björkman, J. Cronqvist, P. Rådström, et E. Holst. 2007. « First case of type E wound botulism diagnosed using real-time PCR ». *Journal of Clinical Microbiology* 45 (11) : 3589-94. <https://doi.org/10.1128/JCM.01192-07>.
- Badagliacca, P., F. Pomilio, B. Auricchio, A. F. Sperandii, A. Di Provvio, M. Di Ventura, G. Migliorati, M. Caudullo, D. Morelli, et F. Anniballi. 2018. « Type C/D botulism in the waterfowl in an urban park in Italy ». *Anaerobe* 54 (décembre) : 72-74. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2018.07.010>.
- Banas, D., G. Masson, L. Leglize, et J. C. Pihan. 2002. « Temporal variations of sedimentation in shallow freshwater systems ». *Archiv für Hydrobiologie* 153 (4) : 623-34. <https://doi.org/10.1127/archiv-hydrobiol/153/2002/623>.
- Bano, L., I. Drigo, E. Tonon, F. Agnoletti, D. Giovanardi, et E. Morandini. 2013. « Rice hulls as a possible source of *Clostridium botulinum* type C spores for poultry ». *Veterinary Record* 173 (17) : 427-28. <https://doi.org/10.1136/vr.f6521>.
- Bano, L., I. Drigo, E. Tonon, S. Pascoletti, C. Puiatti, F. Anniballi, B. Auricchio, F. Lista, C. Montecucco, et F. Agnoletti. 2017. « Identification and characterization of *Clostridium botulinum* group III field strains by matrix-assisted laser desorption-ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) ». *Anaerobe* 48 : 126-34. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2017.08.004>.

- Barash, J. R., et S. S. Arnon. 2014. « A novel strain of *Clostridium botulinum* that produces type B and type H botulinum toxins ». *The Journal of Infectious Diseases* 209 (2) : 183-91. <https://doi.org/10.1093/infdis/jit449>.
- Barlow, A. M., S. Tingvoll, E. Gover, A. Schock, et D. Finlay. 2024. « Botulism in two juvenile wild red foxes (*Vulpes vulpes*) in Somerset, England, UK ». *Journal of Wildlife Diseases* 60 (1). <https://doi.org/10.7589/JWD-D-23-00049>.
- Barras, S. C., et J. A. Kadlec. 2000. « Abiotic predictors of avian botulism outbreaks in Utah ». *Wildlife Society Bulletin*, 724-29.
- Barsanti, J. A. 2006. « Botulism ». Dans *Infectious diseases of the dog and cat*. Third ed. Chapter 42 : 389-394. Saunders : Elsevier.
- Barsanti, J. A., M. Walser, C. L. Hatheway, J. M. Bowen, et W. Crowell. 1978. « Type C botulism in American Foxhounds ». *Journal of the American Veterinary Medical Association* 172 (7) : 809-13.
- Beecham, R., T. Thomas, D. X. Gao, et P. S. Gaunt. 2014. « The effects of a sublethal dose of botulinum serotype E on the swimming performance of channel catfish fingerlings ». *Journal of Aquatic Animal Health* 26 (3) : 149-53. <https://doi.org/10.1080/08997659.2014.902873>.
- Boret, P., et S. Reeber. 2003. « Lac de Grand Lieu - Résultats des opérations de ramassage des oiseaux atteints de botulisme sur la réserve naturelle en 2003 ». *Le Courrier de la Nature* n° 209 (décembre) : 17-24.
- Boroff, D. A., et J. R. Reilly. 1959. « Studies of the toxin of *Clostridium botulinum* V : prophylactic immunization of pheasants and ducks against avian botulism ». *Journal of Bacteriology* 77 (2) : 142-46. <https://doi.org/10.1128/jb.77.2.142-146.1959>.
- Bott, T. L., J. S. Deffner, E. McCoy, et E. M. Foster. 1966. « *Clostridium botulinum* type E in fish from the Great Lakes ». *Journal of Bacteriology* 91 (3) : 919-24. <https://doi.org/10.1128/JB.91.3.919-924.1966>.
- Bott, T. L., J. Jr. Johnson, E. M. Foster, et H. Sugiyama. 1968. « Possible origin of the high incidence of *Clostridium botulinum* type E in an inland bay (green bay of lake Michigan) ». *Journal of Bacteriology* 95 (5) : 1542-47. <https://doi.org/10.1128/JB.95.5.1542-1547.1968>.
- Boyd, C. E. 2012. « Drying, liming, other treatments disinfect pond bottoms ». *Global Aquaculture Alliance*, [En ligne]. <https://www.globalseafood.org/advocate/drying-liming-other-treatments-disinfect-pond-bottoms/?headlessPrint=o>.
- Brandis, K. J., J. Spencer, B. Wolfenden, et D. Palmer. 2020. « Avian-botulism risk in waterbird breeding colonies and implications for environmental water management ». *Marine and Freshwater Research* 71 (2) : 179. <https://doi.org/10.1071/MF18446>.
- Bruchim, Y., A. Steinman, M. Markovitz, G. Baneth, D. Elad, et N. Y. Shpigel. 2006. « Toxicological, bacteriological and serological diagnosis of botulism in a dog ». *Veterinary Record* 158 (22) : 768-69. <https://doi.org/10.1136/vr.158.22.768>.
- Byappanahalli, M. N., et R. L. Whitman. 2009. « *Clostridium botulinum* type E occurs and grows in the alga *Cladophora glomerata* ». *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 66 (6) : 879-82. <https://doi.org/10.1139/F09-052>.
- Cann, D. C., et L. Y. Taylor. 1982. « An outbreak of botulism in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, farmed in Britain ». *Journal of Fish Diseases* 5 (5) : 393-99. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1982.tb00495.x>.
- Chatla, K., P. Gaunt, L. Petrie-Hanson, C. Hohn, L. Ford, et L. Hanson. 2014. « Zebrafish (*Danio rerio*) bioassay for visceral toxicosis of catfish and botulinum neurotoxin serotype E ». *Journal of veterinary diagnostic investigation* 26 (2) : 240-45. <https://doi.org/10.1177/1040638713519642>.
- Chatla, K., P. S. Gaunt, L. Hanson, D. X. Gao, et R. Wills. 2012. « Determination of the median lethal dose of botulinum serotype E in channel catfish fingerlings ». *Journal of Aquatic Animal Health* 24 (2) : 105-9. <https://doi.org/10.1080/08997659.2012.675935>.

- Chatla, K., P. S. Gaunt, L. Petrie-Hanson, L. Ford, et L. A. Hanson. 2016. « Zebrafish sensitivity to botulinum neurotoxins ». *Toxins (Basel)* 8 (5) : 132. <https://doi.org/10.3390/toxins8050132>.
- Chipault, J. G., C. L. White, D. S. Blehert, S. K. Jennings, et S. M. Strom. 2015. « Avian botulism type E in waterbirds of Lake Michigan, 2010 – 2013 ». *Journal of Great Lakes Research* 41 (2) : 659-64. <https://doi.org/10.1016/j.jglr.2015.03.021>.
- Chun, C. L., C. I. Kahn, A. J. Borchert, M. N. Byappanahalli, R. L. Whitman, J. Peller, C. Pier, G. Lin, E. A. Johnson, et M. J. Sadowsky. 2015. « Prevalence of toxin-producing *Clostridium botulinum* associated with the macroalga *Cladophora* in three Great Lakes: growth and management ». *Science of the Total Environment* 511 : 523-29. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.12.080>.
- Chun, C. L., U. Ochsner, M. N. Byappanahalli, R. L. Whitman, W. H. Tepp, G. Lin, E. A. Johnson, J. Peller, et M. J. Sadowsky. 2013. « Association of toxin-producing *Clostridium botulinum* with the macroalga *Cladophora* in the Great Lakes ». *Environmental Science & Technology* 47 (6) : 2587-94. <https://doi.org/10.1021/es304743m>.
- Circella, E., A. Camarda, L. Bano, G. Marzano, R. Lombardi, F. D'Onghia, et G. Greco. 2019. « Botulism in wild birds and changes in environmental habitat: a relationship to be considered ». *Animals* 9 (12) : 1034. <https://doi.org/10.3390/ani9121034>.
- Clench, M. H., et J. R. Mathias. 1995. « The avian cecum: a review ». *The Wilson Bulletin* 107 (1) : 93-121.
- Clipef, D. J., et G. Wobeser. 1993. « Observations on waterfowl carcasses during a botulism epizootic ». *Journal of Wildlife Diseases* 29 (1) : 8-14. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-29.1.8>.
- Coffield, J. A., N. Bakry, R. D. Zhang, J. Carlson, L. G. Gomella, et L. L. Simpson. 1997. « *In vitro* characterization of botulinum toxin types A, C and D action on human tissues: combined electrophysiologic, pharmacologic and molecular biologic approaches ». *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 280 (3) : 1489-98. [https://doi.org/10.1016/S0022-3565\(24\)36519-X](https://doi.org/10.1016/S0022-3565(24)36519-X).
- Contreras de Vera, A., A. Garcia Fernandez, M. J. Cubero Pablo, et L. Leon-Vizcaino. 1991. « Low prevalence of *C botulinum* in Spanish wetlands with a tidal regime ». *Veterinary Record* 128 (8) : 187-88. <https://doi.org/10.1136/vr.128.8.187>.
- Contreras de Vera, A., L. León-Vizcaíno, J. Carranza, M. Hermoso de Mendoza, et F. Garrido. 1987. « Botulismo aviar en zonas húmedas de la campiña de Sevilla y Córdoba ». *Medicina Veterinaria* 4 : 173-79.
- Dahlenborg, M., E. Borch, et P. Rådström. 2003. « Prevalence of *Clostridium botulinum* types B, E and F in faecal samples from Swedish cattle ». *International Journal of Food Microbiology* 82 (2) : 105-10. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(02\)00255-6](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00255-6).
- Decors, A., S. Desvaux, A. Payne, L. Hivert, O. Cardoso, M. Brulé, D. Gauthier, et E. Faure. 2022. « Le réseau SAGIR, la surveillance au carrefour des enjeux ». *Bulletin Épidémiologique santé animale – alimentation* 95 (5) : 1-9.
- Defilippo, F., A. Luppi, G. Maioli, D. Marzi, M. C. Fontana, F. Paoli, P. Bonilauri, M. Dottori, et G. Merialdi. 2013. « Outbreak of type C botulism in birds and mammals in the Emilia Romagna Region, Northern Italy ». *Journal of Wildlife Diseases* 49 (4) : 1042-46. <https://doi.org/10.7589/2013-03-072>.
- Diao, M. M., S. Andre, et J. M. Membré. 2014. « Meta-analysis of D-values of proteolytic *Clostridium botulinum* and its surrogate strain *Clostridium sporogenes* PA 3679 ». *International Journal of Food Microbiology* 174 (mars) : 23-30. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.12.029>.
- Dohms, J. E., P. H. Allen, et S. S. Cloud. 1982. « The immunization of broiler chickens against type C botulism ». *Avian Diseases* 26 (2) : 340-45. <https://doi.org/10.2307/1590103>.

- Dolman, C. E. 1957. « Type E (fish-borne) botulism : a review ». *Japanese journal of medical science and biology* 10 (6) : 383-95. <https://doi.org/10.7883/yoken1952.10.383>.
- Dolman, C. E., et L. Murakami. 1961. « *Clostridium botulinum* type F with recent observations on other types ». *The Journal of Infectious Diseases* 109 (2) : 107-28. <https://doi.org/10.1093/infdis/109.2.107>.
- Doutre, M. P. 1982. « Type D animal botulism in Senegal. First observation in a dog ». *Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux* 35 (1) : 11-14.
- Doutre, M. P. 1983. « 2nd case of botulism type D in the dog in Senegal ». *Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux* 36 (2) : 131-32.
- Duncan, R. M., et W. I. Jensen. 1976. « A relationship between avian carcasses and living invertebrates in the epizootiology of avian botulism ». *Journal of Wildlife Diseases* 12 (1) : 116-26. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-12.1.116>.
- Dupuy, J., et L. Sallé. 2022. *Atlas des oiseaux migrateurs de France*. Biotope Editions. Inventaires & biodiversité. Paris : Muséum national d'Histoire naturelle.
- Efese. 2018. « Les milieux humides et aquatiques continentaux ». L'évaluation française des écosystèmes et des services écosystémiques. Ministère de la transition écologique, Paris. 248 p. https://www.eaufrance.fr/sites/default/files/2018-07/milieux_humides_201803.pdf.
- Eklund, M. W., G. A. Pelroy, R. Paranjpye, M. E. Peterson, et F. M. Teeny. 1982. « Inhibition of *Clostridium botulinum* Types A and E Toxin Production by Liquid Smoke and NaCl in Hot-Process Smoke-Flavored Fish ». *Journal of Food Protection* 45 (10) : 935-41. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-45.10.935>.
- Eklund, M. W., F. T. Poysky, R. N. Paranjpye, M. E. Peterson, et G. A. Pelroy. 2004. « Susceptibility of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum), to different toxins of *Clostridium botulinum* ». *Aquaculture Research* 35 (6) : 594-600. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2004.01058.x>.
- Eklund, M. W., F. T. Poysky, M. E. Peterson, L. W. Peck, et W. D. Brunson. 1984. « Type E botulism in salmonids and conditions contributing to outbreaks ». *Aquaculture* 41 (4) : 293-309. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(84\)90198-4](https://doi.org/10.1016/0044-8486(84)90198-4).
- Eleopra, R., C. Montecucco, G. Devigili, C. Lettieri, S. Rinaldo, L. Verriello, M. Pirazzini, P. Caccin, et O. Rossetto. 2013. « Botulinum neurotoxin serotype D is poorly effective in humans : an in vivo electrophysiological study ». *Clinical Neurophysiology* 124 (5) : 999-1004. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2012.11.004>.
- Eleopra, R., V. Tugnoli, O. Rossetto, C. Montecucco, et D. De Grandis. 1997. « Botulinum neurotoxin serotype C : a novel effective botulinum toxin therapy in human ». *Neuroscience Letters* 224 (2) : 91-94. [https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(97\)13448-6](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(97)13448-6).
- Elrayes, M., S. Al Bachari, R. Macdonagh, A. Peel, S. Khurshid, J. Hamzah, T. Holzmann, et al. 2024. « Delayed onset post-traumatic wound botulism ». *Practical Neurology* 24 (4) : 320-25. <https://doi.org/10.1136/pn-2023-004036>.
- Espelund, M., et D. Klaveness. 2014. « Botulism outbreaks in natural environments - an update ». *Frontiers in Microbiology* 5 (juin). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00287>.
- Essian, D. A., J. G. Chipault, B. M. Lafrancois, et J. B. K. Leonard. 2016. « Gut content analysis of Lake Michigan waterbirds in years with avian botulism type E mortality, 2010 – 2012 ». *Journal of Great Lakes Research* 42 (5) : 1118-28. <https://doi.org/10.1016/j.jglr.2016.07.027>.
- Evelsizer, D. D., T. K. Bollinger, K. W. Dufour, et R. G. Clark. 2010. « Survival of radio-marked mallards in relation to management of avian botulism ». *Journal of Wildlife Diseases* 46 (3) : 864-77. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-46.3.864>.
- Evelsizer, D. D., R. G. Clark, et T. K. Bollinger. 2010. « Relationships between local carcass density and risk of mortality in molting mallards during avian botulism outbreaks ». *Journal of Wildlife Diseases* 46 (2) : 507-13. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-46.2.507>.

- Fach, P., S. Perelle, F. Dilasser, J. Grout, C. Dargaignaratz, L. Botella, J.-M. Gourreau, F. Carlin, M. R. Popoff, et V. Broussolle. 2002. « Detection by PCR-Enzyme-Linked immunosorbent assay of *Clostridium botulinum* in fish and environmental samples from a coastal area in Northern France ». *Applied and Environmental Microbiology* 68 (12) : 5870-76. <https://doi.org/10.1128/aem.68.12.5870-5876.2002>.
- Fillo, S., F. Giordani, E. Tonon, I. Drigo, A. Anselmo, A. Fortunato, F. Lista, et L. Bano. 2021. « Extensive genome exploration of *Clostridium botulinum* Group III field strains ». *Microorganisms* 9 (11) : 2347. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9112347>.
- Fish, N. A., W. R. Mitchell, et D. A. Barnum. 1967. « A report of a natural outbreak of botulism in pheasants ». *The Canadian Veterinary Journal* 8 (1) : 10-16.
- Fohler, S., S. Discher, E. Jordan, C. Seyboldt, G. Klein, H. Neubauer, M. Hoedemaker, et al. 2016. « Detection of *Clostridium botulinum* neurotoxin genes (A-F) in dairy farms from Northern Germany using PCR: A case-control study ». *Anaerobe* 39 (juin) : 97-104. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2016.03.008>.
- Friend, M. et J.-C. Franson. 1999. *Field manual of wildlife diseases: general field procedures and diseases of birds*. Information and technology report 1999-001. Washington, D.C : U.S. Dept. of the Interior, U.S. Geological Survey.
- Garcia, R., Q. Choffel, et T. Nasser. 2020. « Les étangs et leurs ressources piscicoles : perceptions, pratiques et consommations des français – Résultats d'une enquête extrapolée au niveau national ». *Dynamiques environnementales* 45 : 119-30.
- Gaunt, P. S., S. R. Kalb, et J. R. Barr. 2007. « Detection of botulinum type E toxin in channel catfish with visceral toxicosis syndrome using catfish bioassay and endopep mass spectrometry ». *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 19 (4) : 349-54. <https://doi.org/10.1177/104063870701900402>.
- Gerard, J. P. 1974. « Sur la désinfection en pisciculture ». *Bulletin français de la pisciculture*, n° 254 : 20-22. <https://doi.org/10.1051/kmae:1974012>.
- Getchell, R. G., et P. R. Bowser. 2006. « Ecology of type E botulism within dreissenid mussel beds ». *Aquatic Invaders* 17 : 1-8.
- Getchell, R. G., W. J. Culligan, M. Kirchgessner, C. A. Sutton, R. N. Casey, et P. R. Bowser. 2006. « Quantitative polymerase chain reaction assay used to measure the prevalence of *Clostridium botulinum* type E in fish in the lower Great Lakes ». *Journal of Aquatic Animal Health* 18 (1) : 39-50. <https://doi.org/10.1577/H05-013.1>.
- Girardin, H., C. E. Morris, C. Albagnac, N. Dreux, C. Glaux, et C. Nguyen-The. 2005. « Behaviour of the pathogen surrogates *Listeria innocua* and *Clostridium sporogenes* during production of parsley in fields fertilized with contaminated amendments ». *FEMS Microbiology Ecology* 54 (2) : 287-95. <https://doi.org/10.1016/j.femsec.2005.04.003>.
- Gourreau, J. M., O. Debaere, P. Raevel, F. Lamarque, P. Fardel, H. Knockaert, J. Catel, F. Moutou, et M. R. Popoff. 1998. « Étude d'un épisode de botulisme de type E chez des mouettes rieuses (*Larus ridibundus*) et des goélands argentés (*Larus argentatus*) en baie de Canche (Pas-de-Calais) ». *Gibier Faune Sauvage* 15 : 357-363. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:194491138>.
- Gourreau, J. M., J.P. Guillou, C. Louzis, et F. Moutou. 1986. « Botulisme au bois de Boulogne ». *Médecine et Maladies Infectieuses* 16 (8-9) : 524-26. [https://doi.org/10.1016/S0399-077X\(86\)80292-X](https://doi.org/10.1016/S0399-077X(86)80292-X).
- Graham, R., et H. Schwarze. 1921. « Avian botulism (type A) or limber neck ». *The Journal of Infectious Diseases* 28 (4) : 317-22. <https://doi.org/10.1093/infdis/28.4.317>.
- Grecz, N., et L. Arvay. 1982. « Effect of temperature on spore germination and vegetative cell growth of *Clostridium botulinum* ». *Applied and Environmental Microbiology* 43 : 331-37. <https://doi.org/10.1128/aem.43.2.331-337.1982>.
- Gregg, B. M., T. Matsumura, T. G. Wentz, W. H. Tepp, M. Bradshaw, P. Stenmark, E. A. Johnson, Y. Fujinaga, et S. Pellett. 2024. « Botulinum neurotoxin X lacks potency in

- mice and in human neurons ». *mBio* 15 (3) : e03106-23. <https://doi.org/10.1128/mbio.03106-23>.
- Gutiérrez-Arnal, J., et C. Marín. 2024. « The latent threat in wild birds: *Clostridium botulinum* ». *Veterinary Sciences* 11 (1) : 36. <https://doi.org/10.3390/vetsci11010036>.
- Haagsma, J. 1973. « The etiology and epidemiology of botulism in waterfowl in the Netherlands ». *Hydrobiological Bulletin* 7 : 96-105.
- Haagsma, J. 1975. « Sensitivity of eels (*Anguilla anguilla*) and carp (*Cyprinus carpio*) to type C and E botulinum toxin ». *Zentralbl Bakteriolog Orig A* 230 (1) : 59-66.
- Haagsma, J. 1987. « Avian botulism in the Netherlands ». Dans *Avian botulism. An international perspective*, 153-166. Springfield, Illinois.
- Haagsma, J. 1991. « Pathogenic anaerobic bacteria and the environment ». *Scientific and Technical Review* 10 (3) : 749-64. <https://doi.org/10.20506/rst.10.3.569>.
- Hannett, G. E., W. B. Stone, S. W. Davis, et D. Wroblewski. 2011. « Biodiversity of *Clostridium botulinum* type E associated with a large outbreak of botulism in wildlife from Lake Erie and Lake Ontario ». *Applied and Environmental Microbiology* 77 (3) : 1061-68. <https://doi.org/10.1128/aem.01578-10>.
- Hansbauer, E.-M., M. Skiba, T. Endermann, J. Weisemann, D. Stern, M. B. Dorner, F. Finkenwirth, et al. 2016. « Detection, differentiation, and identification of botulinum neurotoxin serotypes C, CD, D, and DC by highly specific immunoassays and mass spectrometry ». *The Analyst* 141 (18) : 5281-97. <https://doi.org/10.1039/C6AN00693K>.
- Harris, R. A., F. Anniballi, et J. W. Austin. 2020. « Adult intestinal toxemia botulism ». *Toxins* 12 (2) : 81. <https://doi.org/10.3390/toxins12020081>.
- Harrison, S., et E. Borland. 1973. « Deaths in ferrets (*Mustela putorius*) due to *Clostridium botulinum* type C ». *Veterinary Record* 93 (22) : 576-77. <https://doi.org/10.1136/vr.93.22.576>.
- Heckman, C. W. 1986. « The role of marsh plants in the transport of nutrients as shown by a quantitative model for the freshwater section of the Elbe estuary ». *Aquatic Botany* 25 (janvier) : 139-51. [https://doi.org/10.1016/0304-3770\(86\)90050-1](https://doi.org/10.1016/0304-3770(86)90050-1).
- Herzig, A., et A. H. Farnleitner. 2005. « Prevalence of botulinum neurotoxin C1 and its corresponding gene in environmental samples from low and high risk avian botulism areas ». *ALTEX* 22 (3) : 185-95.
- Hielm, Hyytiä, Andersin, et Korkeala. 1998. « A high prevalence of *Clostridium botulinum* type E in Finnish freshwater and Baltic Sea sediment samples ». *Journal of Applied Microbiology* 84 (1) : 133-37. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1997.00331.x>.
- Hielm, S., J. Björkroth, E. Hyytiä, et H. Korkeala. 1998. « Prevalence of *Clostridium botulinum* in Finnish trout farms : pulsed-field gel electrophoresis typing reveals extensive genetic diversity among type E isolates ». *Applied and Environmental Microbiology* 64 (11) : 4161-67. <https://doi.org/10.1128/AEM.64.11.4161-4167.1998>.
- Hobbs, G. 1976. « *Clostridium botulinum* and its Importance in Fishery Products ». Dans *Advances in Food Research*, 22 : 135-85. Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0065-2628\(08\)60338-9](https://doi.org/10.1016/S0065-2628(08)60338-9).
- Holms, P. 2019. « Avian botulism – a recurring paralytic disease of wild UK waterbirds ». *Veterinary Record* 185 (9) : 261-62. <https://doi.org/10.1136/vr.l5417>.
- Holzer, E. 1962. « Botulism caused by inhalation ». *Medizinische Klinik* 57 : 1735-38.
- Hubálek, Z., et J. Halouzka. 1991. « Persistence of *Clostridium botulinum* type C toxin in blow fly (*Calliphoridae*) larvae as a possible cause of avian botulism in spring ». *Journal of Wildlife Diseases* 27 (1) : 81-85. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-27.1.81>.
- Hughes, J. M., J. R. Blumenthal, M. H. Merson, G. L. Lombard, V. R. Dowell Jr, et E. J. Gangarosa. 1981. « Clinical features of types A and B food-borne botulism ». *Annals of Internal Medicine* 95 (4) : 442-45. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-95-4-442>.

- Huss, H. H. 1980. « Distribution of *Clostridium botulinum* ». *Applied and Environmental Microbiology* 39 (4) : 764-69. <https://doi.org/10.1128/aem.39.4.764-769.1980>.
- Hyun, S. H., et G. Sakaguchi. 1989. « Implication of coprophagy in pathogenesis of chicken botulism ». *The Japanese Journal of Veterinary Science* 51 (3) : 582-86. <https://doi.org/10.1292/jvms1939.51.582>.
- Hyytiä, E., S. Hielm, et H. Korkeala. 1998. « Prevalence of *Clostridium botulinum* type E in finnish fish and fishery products ». *Epidemiology and Infection* 120 (3) : 245-50. <https://doi.org/10.1017/S0950268898008693>.
- Inger, R., D. T. C. Cox, E. Per, B. A. Norton, et K. J. Gaston. 2016. « Ecological role of vertebrate scavengers in urban ecosystems in the UK ». *Ecology and Evolution* 6 (19) : 7015-23. <https://doi.org/10.1002/ece3.2414>.
- Jensen, W. I. 1981. « Evaluation of coproexamination as a diagnostic test for avian botulism ». *Journal of Wildlife Diseases* 17 (2) : 171-76. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-17.2.171>.
- Johnson, A. L., S. C. McAdams, et R. H. Whitlock. 2010. « Type A botulism in horses in the United States : a review of the past ten years (1998–2008) ». *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 22 (2) : 165-73. <https://doi.org/10.1177/104063871002200201>.
- Khoo, L. H., A. E. Goodwin, D. J. Wise, W. E. Holmes, L. A. Hanson, J. M. Steadman, L. M. McIntyre, et P. S. Gaunt. 2011. « The pathology associated with visceral toxicosis of catfish ». *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 23 (6) : 1217-21. <https://doi.org/10.1177/1040638711425577>.
- Kim, J., et P. M. Foegeding. 1993. « Principles of control ». Dans *Clostridium botulinum. Ecology and control in foods*. Sous la direction de A. H. W. Hauschild et K. L. Dodds, 121-176. New York : Marcel Dekker.
- King, L. A., T. Niskanen, M. Junnikkala, E. Moilanen, M. Lindström, H. Korkeala, T. Korhonen, M. R. Popoff, C. Mazuet, et H. Callon. 2009. « Botulism and hot-smoked whitefish: a family cluster of type E botulism in France, September 2009 ». *Eurosurveillance* 14 (45) : 19394. [10.2807/ese.14.45.19394-en](https://doi.org/10.2807/ese.14.45.19394-en).
- Koene, M. 2022. « Botulism in Dutch wildlife, a review on the last decade ». Online Workshop (6,7, 10 & 12 October). « Avian botulism in wildlife : a one health perspective. Med-Vet-Net Association – Anses.
- Kudrow, D. B., D. A. Henry, D. A. Haake, G. Marshall, et G. E. Mathisen. 1988. « Botulism associated with *Clostridium botulinum* sinusitis after intranasal cocaine abuse ». *Annals of Internal Medicine* 109 (12) : 984-85. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-109-12-984>.
- Kurazono, H., K. Shimozawa, et G. Sakaguchi. 1987. « Experimental botulism in pheasants ». Dans *Avian botulism, an international perspective*. Sous la direction de M. W. Eklund et V. R. Dowell. USA : Charles C. Thomas, Springfield, Illinois.
- Kurazono, H., K. Shimozawa, G. Sakaguchi, M. Takahashi, T. Shimizu, et H. Kondo. 1985. « Botulism among penned pheasants and protection by vaccination with C1 toxoid ». *Research in Veterinary Science* 38 (1) : 104-8. [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(18\)31856-3](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(18)31856-3).
- Lafrancois, B. M., S. C. Riley, D. S. Blehert, et A. E. Ballmann. 2011. « Links between type E botulism outbreaks, lake levels, and surface water temperatures in Lake Michigan, 1963 – 2008 ». *Journal of Great Lakes research* 37 (1) : 86-91. <https://doi.org/10.1016/j.jglr.2010.10.003>.
- Lalitha, K. V., et K. Gopakumar. 2001. « Sensitivity of Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) to *Clostridium botulinum* toxins ». *Aquaculture Research* 32 (9) : 761-64. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2001.00616.x>.

- Lamoureux, A., C. Pouzot-Nevoret, et C. Escriou. 2015. « A case of type B botulism in a pregnant bitch ». *Journal of Small Animal Practice* 56 (5) : 348-50. <https://doi.org/10.1111/jsap.12290>.
- Le Bihan, J., et M. Font. 2008. « Synthèses sur les zones humides françaises, à destination des gestionnaires, élus et acteurs de terrain : Les Etangs. Synthèses réalisées par les Pôles-Relais sur la demande du Ministère de l'Ecologie, du Développement et de l'Aménagement Durables ». 64 p.
- Le Bouquin, S., C. Lucas, R. Souillard, C. Le Maréchal, K. Petit, P. Kooh, N. Jourdan-Da Silva, F. Meurens, L. Guillier, et C. Mazuet. 2022. « Human and animal botulism surveillance in France from 2008 to 2019 ». *Frontiers in Public Health* 10 (novembre) : 1003917. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2022.1003917>.
- Le Dréan-Quenec'hdu, S., L. Marion, et M. R. Popoff. 2005. « Epidemiology of avian botulism in France : example of Grand Lieu lake ». 8th European AAV Conference: 106-11.
- Le Gratiot, T. 2022. « Typage des souches de *Clostridium botulinum* du groupe III : développement d'outils et application à l'épidémiologie du botulisme animal ». Thèse de doctorat, Université de Rennes, 243 p.
- Le Gratiot, T., T. Poezevara, S. Rouxel, E. Houard, C. Mazuet, M. Chemaly, et C. L. Maréchal. 2020. « Development of an innovative and quick method for the isolation of *Clostridium botulinum* strains involved in avian botulism outbreaks ». *Toxins (Basel)* 12 (1). <https://doi.org/10.3390/toxins12010042>.
- Le Maréchal, C., V. Ballan, S. Rouxel, M. H. Bayon-Auboyer, M. A. Baudouard, H. Morvan, E. Houard, T. Poëzevara, R. Souillard, et C. Woudstra. 2016. « Livers provide a reliable matrix for real-time PCR confirmation of avian botulism ». *Anaerobe* 38 : 7-13. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2015.10.014>.
- Le Maréchal, C., M. Denis, L. Vanlemmens, L. Jambou, G. Delvallez, T. Poezevara, M. Abed-Zahar, et al. 2024. « An outbreak of botulism on a pig farm due to the newly described *Clostridium botulinum* type C ». *Anaerobe* 89 (octobre) : 102885. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2024.102885>.
- Le Maréchal, C., S. Rouxel, V. Ballan, E. Houard, T. Poezevara, M. H. Bayon-Auboyer, R. Souillard, et al. 2017. « Development and validation of a new reliable method for the diagnosis of avian botulism ». *PLoS One* 12 (1) : e0169640. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169640>.
- Le Maréchal, C., C. Woudstra, et P. Fach. 2016. « : Botulism ». Dans *Clostridial diseases of animals*. Sous la direction de F. A. Uzal et al. Chapter 26: 303–332. Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1002/9781118728291.ch26>.
- Leclair, D., J. Fung, J. L. Isaac-Renton, J. F. Proulx, J. May-Hadford, A. Ellis, E. Ashton, et al. 2013. « Foodborne botulism in Canada, 1985-2005 ». *Emerging Infectious Diseases* 19 (6) : 961-68. <https://doi.org/10.3201/eid1906.120873>.
- Lindström, M., et H. Korkeala. 2006. « Laboratory diagnostics of botulism ». *Clinical Microbiology Reviews* 19 (2) : 298-314. <https://doi.org/10.1128/cmr.19.2.298-314.2006>.
- Lindström, M., M. Nevas, J. Kurki, R. Sauna-aho, A. Latvala-Kiesilä, I. Pölönen, et H. Korkeala. 2004. « Type C botulism due to toxic feed affecting 52,000 farmed foxes and minks in Finland ». *Journal of Clinical Microbiology* 42 (10) : 4718-25. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.10.4718-4725.2004>.
- Locke, L. N., et M. Friend. 1987. « Avian botulism ». US Fish and Wildlife Service.
- Lund, B. M., et M. W. Peck. 2013. *Clostridium botulinum*. Guide to Foodborne Pathogens, 2nd Edition.
- Lúquez, C., J. K. Dykes, P. A. Yu, B. H. Raphael, et S. E. Maslanka. 2010. « First report worldwide of an infant botulism case due to *Clostridium botulinum* type E ». *Journal of Clinical Microbiology* 48 (1) : 326-28. <https://doi.org/10.1128/JCM.01420-09>.

- MacDonald, K. L., G. W. Rutherford, S. M. Friedman, J. R. Dietz, B. R. Kaye, G. F. McKinley, J. H. Tenney, et M. L. Cohen. 1985. « Botulism and botulism-like illness in chronic drug abusers ». *Annals of Internal Medicine* 102 (5) : 616-18. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-102-5-616>.
- Maeda, R., M. Mori, S. Harada, I. Izu, T. Hirano, Y. Inoue, S. Yahiro, et H. Koyama. 2023. « Emergence of novel type C botulism strain in household outbreak, Japan ». *Emerging Infectious Diseases* 29 (10). <https://doi.org/10.3201/eid2910.230433>.
- Marion, W. R., T. E. O'Meara, G. D. Riddle, et H. A. Berkhoff. 1983. « Prevalence of *Clostridium botulinum* type C in substrates of phosphate-mine settling ponds and implications for epizootics of avian botulism ». *Journal of Wildlife Diseases* 19 (4) : 302-7. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-19.4.302>.
- Martinez, R., et G. Wobeser. 1999. « Immunization of ducks for type C botulism ». *Journal of Wildlife Diseases* 35 (4) : 710-15. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-35.4.710>.
- Martrenchar, A., F. Djossou, C. Stagnetto, C. Dupuy, E. Brulez, C. Attica, G. Egmann, J. Gruenfeld, J-M. Fontanella, et M-R Popoff. 2019. « Is botulism type C transmissible to human by consumption of contaminated poultry meat? Analysis of a suspect outbreak in French Guyana ». *Anaerobe* 56 (avril) : 49-50. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2019.02.008>.
- Masters, A. M., et D. G. Palmer. 2021. « Confirmation of botulism diagnosis in Australian bird samples by ELISA and RT rtPCR ». *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 33 (4) : 684-94. <https://doi.org/10.1177/10406387211014486>.
- Maupas, Ph, J. P. Lamagnere, F. Lamiisse, et J. Laugier. 1976. « Botulisme de Type C. Intérêt de la recherche de la toxémie ». *Médecine et Maladies Infectieuses* 6 (6) : 207-10. [https://doi.org/10.1016/S0399-077X\(76\)80079-0](https://doi.org/10.1016/S0399-077X(76)80079-0).
- Mazuet, C., N. Da Silva Jourdan, C. Legeay, J. Sautereau, et R. M. Popoff. 2018. « Le botulisme humain en France, 2013–2016 ». *Bulletin épidémiologique hebdomadaire* 3 : 46-54.
- McCroskey, L. M., C. L. Hatheway, L. Fenicia, B. Pasolini, et P. Aureli. 1986. « Characterization of an organism that produces type E botulinal toxin but which resembles *Clostridium butyricum* from the feces of an infant with type E botulism ». *Journal of Clinical Microbiology* 23 (1) : 201-2. <https://doi.org/10.1128/jcm.23.1.201-202.1986>.
- Meloni, E., C. Le Maréchal, F. Millot, A. Payne, C. Calenge, C. Mazuet, M. Chemaly, et al. 2023. « Exposure of waterfowl to *Clostridium botulinum* in France ». *Frontiers in Conservation Science* 4 (janvier) : 1011555. <https://doi.org/10.3389/fcosc.2023.1011555>.
- Merson, M. H., et V. R. Dowell. 1973. « Epidemiologic, clinical and laboratory aspects of wound botulism ». *New England Journal of Medicine* 289 (19) : 1005-10. <https://doi.org/10.1056/NEJM197311082891904>.
- Meurice, L., L. Filleul, A. Fischer, A. Burbaud, G. Delvallez, L. Diancourt, S. Belichon, et al. 2023. « Foodborne botulism outbreak involving different nationalities during the Rugby World Cup : critical role of credit card data and rapid international cooperation, France, September 2023 ». *Eurosurveillance* 28 (47). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2023.28.47.2300624>.
- Minias, P., R. Włodarczyk, et T. Janiszewski. 2016. « Minor differentiation of foraging niche may have a major impact on the incidence of avian botulism in shorebirds ». *Basic and Applied Ecology* 17 (6) : 546-51. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2016.04.003>.
- Miyazaki, S., et G. Sakaguchi. 1978. « Experimental botulism in chickens: the cecum as the site of production and absorption of botulinum toxin ». *Japanese Journal of Medical Science and Biology* 31 (1) : 1-15. <https://doi.org/10.7883/yoken1952.31.1>.

- Monheimer, R. H. 1968. « The relationship of lake Michigan waterbird mortalities to naturally occurring *Clostridium botulinum* Type E Toxin ». *Bulletin of the Wildlife Disease Association* 4 (3) : 81-85. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-4.3.81>.
- Moore, R. J., et J. A. Lacey. 2019. « Genomics of the Pathogenic Clostridia ». *Microbiology Spectrum* 7 (3). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0033-2018>.
- Mulhauser, B., G. Monnier, C. Clerc, F. Guiol, et S. Nicolle. 1995. « *Guide de la faune et de la flore des lacs et des étangs d'Europe* », 335 p. Delachaux et Nieslé.
- Munir, M. T., N. Mtimet, L. Guillier, F. Meurens, P. Fravalo, M. Federighi, et P. Kooh. 2023. « Physical treatments to control *Clostridium botulinum* hazards in food ». *Foods* 12 (8) : 1580. <https://doi.org/10.3390/foods12081580>.
- Murphy, T., et H. G. Peterson. 2003. « Approaches towards environmental restoration ». Dans *Freshwater management: global versus local perspective*, 83-114. Tokyo, Japan : Springer-Verlag.
- Neimanis, A., D. Gavier-Widén, F. Leighton, T. Bollinger, T. Rocke, et T. Mörner. 2007. « An outbreak of type C botulism in herring gulls (*Larus argentatus*) in southeastern Sweden ». *Journal of Wildlife Diseases* 43 (3) : 327-36. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-43.3.327>.
- Nol, P., T. E. Rocke, K. Gross, et T. M. Yuill. 2004. « Prevalence of neurotoxic *Clostridium botulinum* type C in the gastrointestinal tracts of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) in the Salton Sea ». *Journal of Wildlife Diseases* 40 (3) : 414-19. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-40.3.414>.
- Oguma, K. 1976. « The stability of toxigenicity in *Clostridium botulinum* types C and D ». *Journal of General Microbiology* 92 (1) : 67-75. <https://doi.org/10.1099/00221287-92-1-67>.
- Oguma, K., K. Yokota, S. Hayashi, K. Takeshi, M. Kumagai, N. Itoh, N. Tachi, et S. Chiba. 1990. « Infant botulism due to *Clostridium botulinum* type C toxin ». *The Lancet* 336 (8728) : 1449-50. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(90\)93157-K](https://doi.org/10.1016/0140-6736(90)93157-K).
- OMSA. 2024. « Code sanitaire pour les animaux aquatiques. Chapitre 4.4 Désinfection des établissements d'aquaculture et de leur équipement ». Accès en ligne au code aquatique. Organisation mondiale de la santé animale. <https://www.woah.org/fr/ce-que-nous-faisons/normes/codes-et-manuels/>.
- Ortiz, N. E., et G. R. Smith. 1994. « Landfill sites, botulism and gulls ». *Epidemiology & Infection* 112 (2) : 385-91. [10.1017/s0950268800057794](https://doi.org/10.1017/s0950268800057794).
- Palmer, J. S., R. L. Hough, H. M. West, et L. M. Avery. 2019. « A review of the abundance, behaviour and detection of clostridial pathogens in agricultural soils ». *European Journal of Soil Science* 70 (4) : 911-29. <https://doi.org/10.1111/ejss.12847>.
- Peck, T. S., F. Anniballi, J. Austin, L. Bano, M. Bradshaw, P. Cuervo, et al. 2017. « Historical perspectives and guidelines for botulinum neurotoxin subtype nomenclature ». *Toxins* 9 (1) : 38. <https://doi.org/10.3390/toxins9010038>.
- Peck, M. D. W., et K. E. Goodburn. 2020. « Assessment of the risk of botulism from chilled, vacuum/modified atmosphere packed fresh beef, lamb and pork held at 3 °C – 8 °C ». *Food Microbiol* 91 (Octobre) : 103544. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103544>.
- Pegram, P., et S. Stone. 2020. « Botulism ». www.uptodate.com/contents/botulism.
- Pellett, S., W. H. Tepp, J. M. Scherf, C. L. Pier, et E. A. Johnson. 2015. « Activity of botulinum neurotoxin type D (strain 1873) in human neurons ». *Toxicon* 101 (juillet) : 63-69. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2015.04.015>.
- Peng Chen, Z., J. G. Jr Morris, R. L. Rodriguez, A. Wagle Shukla, J. Tapia-Núñez, et M. S. Okun. 2012. « Emerging opportunities for serotypes of botulinum neurotoxins ». *Toxins (Basel)* 4 (11) : 1196-1222. <https://doi.org/10.3390/toxins4111196>.
- Pérez-Fuentetaja, A., M. D. Clapsadl, D. Einhouse, P. R. Bowser, R. G. Getchell, et W. T. Lee. 2006. « Influence of limnological conditions on *Clostridium botulinum* Type E presence

- in eastern Lake Erie sediments (Great Lakes, USA) ». *Hydrobiologia* 563 (1) : 189-200. <https://doi.org/10.1007/s10750-005-0011-1>.
- Pérez-Fuentetaja, A., M. D. Clapsadl, R. G. Getchell, P. R. Bowser, et W. T. Lee. 2011. « *Clostridium botulinum* type E in Lake Erie: Inter-annual differences and role of benthic invertebrates ». *Journal of Great Lakes Research* 37 (2) : 238-44. <https://doi.org/10.1016/j.jglr.2011.03.013>.
- Piazza, T. M., D. S. Blehert, F. M. Dunning, B. M. Berlowski-Zier, F. N. Zeytin, M. D. Samuel, et W. C. Tucker. 2011. « *In vitro* detection and quantification of botulinum neurotoxin type E activity in avian blood ». *Applied and Environmental Microbiology* 77 (21) : 7815-22. <https://doi.org/10.1128/AEM.06165-11>.
- Pigatto, C. P., R. P. Schocken-Iturrino, T. P. Chioda, G. R. Garcia, J. Vittori, et S. C. P. Berchielli. 2007. « Natural *Clostridium botulinum* type C toxicosis in a group of chickens ». *Archives of Veterinary Science* 12 (2) : 14-17. <https://doi.org/10.1128/jcm.42.11.5406-5408.2004>.
- Pinay, G., C. Gascuel, A. Menesguen, Y. Souchon, M. Le Moal, A. Levain, F. Moatar, A. Pannard, et P. Souchu. 2017. « L'eutrophisation : manifestations, causes, conséquences et prédictibilité. Synthèse de l'Expertise scientifique collective CNRS-Ifrémer-INRA-Irstea ». 148 p. <https://archimer.ifremer.fr/doc/00408/51903/52526.pdf>.
- Popoff, M. R. 2017. « *Clostridium botulinum* et autres *Clostridium* producteurs de neurotoxines botuliques ». Dans *Risques microbiologiques alimentaires*. Sous la direction de M. Naïtali, L. Guillier, et F. Dubois-Brissonnet. Lavoisier.
- Popoff, M. R. 2018. « Botulinum toxins, diversity, mode of action, epidemiology of botulism in France ». Dans *Botulinum Toxin*. Sous la direction de N. Serdev. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.79056>.
- Popoff, M. R., et P. Bouvet. 2013. « Genetic characteristics of toxigenic Clostridia and toxin gene evolution ». *Toxicon* 75 (décembre) : 63-89. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2013.05.003>.
- Portinha, I. M., F. P. Douillard, H. Korkeala, et M. Lindström. 2022. « Sporulation strategies and potential role of the exosporium in survival and persistence of *Clostridium botulinum* ». *International Journal of Molecular Sciences* 23 (2) : 754. <https://doi.org/10.3390/ijms23020754>.
- Poulain, B., et M. R. Popoff. 2019. « Why are botulinum neurotoxin-producing bacteria so diverse and botulinum neurotoxins so toxic? » *Toxins (Basel)* 11 (1). <https://doi.org/10.3390/toxins11010034>.
- Prévot, A. R., et E. R. Brygoo. 1953. « Nouvelles recherches sur le botulisme et ses 5 types toxiques ». *Annales de l'Institut Pasteur (Paris)* 85 : 544-575.
- Quortrup, E. R., et A. L. Holt. 1941. « Detection of potential botulinus-toxin-producing areas in western duck marshes with suggestions for control ». *Journal of Bacteriology* 41 (3) : 363-72. <https://doi.org/10.1128/jb.41.3.363-372.1941>.
- Ramade, F. 2008. *Dictionnaire encyclopédique des sciences de la nature et de la biodiversité*. Paris : Dunod.
- Rao, A. K., et S. Maslanka. 2018. « Botulism ». Dans *Harrison's Principles of internal medicine*, 20e. Sous la direction de J. L. Jameson, A. S. Fauci, D. L. Kasper, S. L. Hauser, D. L. Longo et J. Loscalzo, chapter 148. McGraw-Hill Education.
- Raphael, B. H., M. Lautenschlager, S. R. Kalb, L. I. T. De Jong, M. Frace, C. Lúquez, J. R. Barr, R. A. Fernández, et S. E. Maslanka. 2012. « Analysis of a unique *Clostridium botulinum* strain from the Southern hemisphere producing a novel type E botulinum neurotoxin subtype ». *BMC microbiology* 12 : 245-245. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-12-245>.
- Rasetti-Escargueil, C., E. Lemichez, et M. R. Popoff. 2019. « Public health risk associated with botulism as foodborne zoonoses ». *Toxins (Basel)* 12 (1), 17. <https://doi.org/10.3390/toxins12010017>.

- Reed, T. M., et T. E. Rocke. 1992. « The role of avian carcasses in botulism epizootics ». *Wildlife Society Bulletin (1973-2006)* 20 (2) : 175-82.
- Reynolds, M. H., K. N. Johnson, E. R. Schvaneveldt, D. L. Dewey, K. J. Uyehara, et S. C. Hess. 2021. « Efficacy of detection canines for avian botulism surveillance and mitigation ». *Conservation Science and Practice* 3 (6) : e397. <https://doi.org/10.1111/csp2.397>.
- Roberts, T. A., et A. M. Gibson. 1979. « The relevance of *Clostridium botulinum* type C in public health and food processing ». *International Journal of Food Science & Technology* 14 (3) : 211-26. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1979.tb00866.x>.
- Roblot, F., M. Popoff, J. P. Carlier, C. Godet, P. Abbadie, S. Matthis, A. Eisendorn, G. Le Moal, B. Becq-Giraudon, et P. Roblot. 2006. « Botulism in patients who inhale cocaine : the first cases in France ». *Clinical Infectious Diseases* 43 (5) : e51-52. <https://doi.org/10.1086/506567>.
- Roblot, P., F. Roblot, J. L. Fauchère, A. Devilleger, R. Maréchaud, J. P. Breux, G. Grollier, et B. Becq-Giraudon. 1994. « Retrospective study of 108 cases of botulism in Poitiers, France ». *Journal of Medical Microbiology* 40 (6) : 379-84. <https://doi.org/10.1099/00222615-40-6-379>.
- Rocke, T. E. 2006. « The global importance of avian botulism ». Dans *Waterbirds around the world*. Sous la direction de G. C. Boere, C. A. Galbraith et D. A. Stroud, 422–426. United Kingdom : the Stationery Office; Edinburgh.
- Rocke, T. E., et T. K. Bollinger. 2007. « Avian botulism ». Dans *Infectious diseases of wild birds*. Sous la direction de N. J. Thomas, D. B. Hunter, et C. T. Atkinson, 377-416. Oxford, UK : Blackwell Publishing Ltd.
- Rocke, T. E., N. H. Euliss, et M. D. Samuel. 1999. « Environmental characteristics associated with the occurrence of avian botulism in wetlands of a Northern California refuge ». *The journal of wildlife management* 63 (1) : 358-68. <https://doi.org/10.2307/3802520>.
- Rocke, T. E., et M. Friend. 1999. « Avian botulism ». Dans *Field manual of wildlife diseases : general field procedures and diseases of birds*, 271-81. US Geological Survey. Washington, DC : Ciganovich EA.
- Rocke, T. E., M. D. Samuel, P. K. Swift, et G. S. Yarris. 2000. « Efficacy of a type C botulism vaccine in green-winged teal ». *Journal of Wildlife Diseases* 36 (3) : 489-93. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-36.3.489>.
- Rogers, K. H., O. Gonzales Viera, F. A. Uzal, L. Peronne, et A. Mete. 2021. « Mortality of western gulls (*Larus occidentalis*) associated with botulism type A in coastal Southern California, USA ». *Journal of Wildlife Diseases* 57 (3). <https://doi.org/10.7589/JWD-D-20-00153>.
- Russell. 1990. « Bacterial spores and chemical sporicidal agents ». *Clinical Microbiology Reviews* 3 (2) : 99-119. <https://doi.org/10.1128/cmr.3.2.99>.
- Russell, I. A., R. M. Randall, D. Zimmerman, et D. Govender. 2019. « Outbreak of avian botulism and its effect on waterbirds in the Wilderness Lakes, South Africa ». *KOEDOE - African Protected Area Conservation and Science* 61 (1). <https://doi.org/10.4102/koedoe.v61i1.1553>.
- Sakaguchi, Y., T. Hayashi, K. Kurokawa, K. Nakayama, K. Oshima, Y. Fujinaga, M. Ohnishi, E. Ohtsubo, M. Hattori, et K. Oguma. 2005. « The genome sequence of *Clostridium botulinum* type C neurotoxin-converting phage and the molecular mechanisms of unstable lysogeny ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 102 (48) : 17472-77. <https://doi.org/10.1073/pnas.0505503102>.
- Sandler, R. J., T. E. Rocke, et T. M. Yuill. 1998. « The inhibition of *Clostridium botulinum* type C by other bacteria in wetland sediments ». *Journal of Wildlife Diseases* 34 (4) : 830-33. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-34.4.830>.

- Sandler, R. J., T. E. Rocke, M. D. Samuel, et T. M. Yuill. 1993. « Seasonal prevalence of *Clostridium botulinum* type C in sediments of Northern California wetland ». *Journal of Wildlife Diseases* 29 (4) : 533-39. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-29.4.533>.
- Sandre. 2014. « Dictionnaire des données : description des milieux humides. Thème : milieux humides (Version 2) ». Service d'administration nationale des données et référentiels sur l'eau. https://www.sandre.eaufrance.fr/ftp/documents/fr/ddd/mhi/2.0/sandre_dictionnaire_MHI_2.pdf.
- Segner, W. P., et C. F. Schmidt. 1971. « Heat resistance of spores of marine and terrestrial strains of *Clostridium botulinum* type C ». *Applied Microbiology* 22 (6) : 1030-33. <https://doi.org/10.1128/am.22.6.1030-1033.1971>.
- Segner, W. P., C. F. Schmidt, et J. K. Boltz. 1971. « Minimal growth temperature, sodium chloride tolerance, pH sensitivity, and toxin production of marine and terrestrial strains of *Clostridium botulinum* Type C ». *Applied Microbiology* 22 (6) : 1025-1029. <https://doi.org/10.1128/aem.22.6.1025-1029.1971>.
- Siegel, L. S. 1993. « Destruction of botulinum toxins in food and water ». Dans *Clostridium botulinum. Ecology and control in foods*. 1st Edition. Sous la direction de A. H. W. Haushchild et K. L. Dodds, 323-32. New York : Marcel Dekker.
- Silva, R. O. S., R. A. Martins, R. A. Assis, C. A. Oliveira Junior, et F. C. F. Lobato. 2018. « Type C botulism in domestic chickens, dogs and black-pencilled marmoset (*Callithrix penicillata*) in Minas Gerais, Brazil ». *Anaerobe* 51 (juin) : 47-49. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2018.03.013>.
- Silva, R. O. S., S. Y. M. Gómez, L. B. Medeiros, M. V. R. Marques, A. S. G. Silva, E. N. Mureb, C. A. Oliveira Junior, S. M. Favoretto, F. C. F. Lobato, et N. R. S. Martins. 2017. « Antitoxin therapy of natural avian botulism outbreaks occurred in Brazil ». *Anaerobe* 48 (décembre) : 115-17. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2017.08.005>.
- Skarin, H., T. Håfström, J. Westerberg, et B. Segerman. 2011. « *Clostridium botulinum* group III : a group with dual identity shaped by plasmids, phages and mobile elements ». *BMC Genomics* 12 (1) : 185. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-12-185>.
- Skarin, H., Y. Lindgren, et D. S. Jansson. 2015. « Investigations into an outbreak of botulism caused by *Clostridium botulinum* Type C/D in Laying Hens ». *Avian Diseases* 59 (2) : 335-40. <https://doi.org/10.1637/10861-051214-Case>.
- Skulberg, A., et M. Grande. 1967. « Susceptibility of rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson, to *Clostridium botulinum* toxins ». *Transactions of the American Fisheries Society* 96 (1) : 67-70. [https://doi.org/10.1577/1548-8659\(1967\)96\[67:SORTSG\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8659(1967)96[67:SORTSG]2.0.CO;2).
- Skulberg, A., et G. Holt. 1987. « Avian botulism in scandinavia ». Dans *Avian botulism, an international perspective*. Sous la direction de M. W. Eklund et V. R. Dowell, 107-110. USA : Charles C. Thomas, Springfield, Illinois.
- Smart, J. L., T. O. Jones, F. G. Clegg, et M. J. McMurtry. 1987. « Poultry waste associated type C botulism in cattle ». *Epidemiology & Infection* 98 (1) : 73-79. <https://doi.org/10.1017/S0950268800061720>.
- Smith, L. D. 1975. « Inhibition of *Clostridium botulinum* by strains of *Clostridium perfringens* isolated from soil ». *Applied Microbiology* 30 (2) : 319-23. <https://doi.org/10.1128/am.30.2.319-323.1975>.
- Smith, G. R., J. C. Oliphant, et W. R. White. 1982. « *Clostridium botulinum* type C in the Mersey estuary ». *Journal of Hygiene* 89 (3) : 507-11. <https://doi.org/10.1017/S0022172400071072>.
- Smith, A. T., et D. Till. 1988. « Factors affecting the toxicity of rotting carcasses containing *Clostridium botulinum* type E ». *Epidemiology and Infection* 100 (3) : 399-405. [10.1017/s0950268800067157](https://doi.org/10.1017/s0950268800067157).
- Son, K., Y. K. Kim, C. Woo, S-J. Wang, Y. Kim, J-K. Oem, W. Jheong, et J. Jeong. 2018. « Minimizing an outbreak of avian botulism (*Clostridium botulinum* type C) in Incheon,

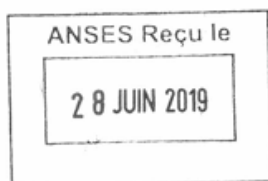
- South Korea ». *Journal of Veterinary Medical Science* 80 (3) : 553-56. <https://doi.org/10.1292/jvms.17-0519>.
- Souillard, R., D. Grosjean, T. Le Gratiot, T. Poezevara, S. Rouxel, L. Balaine, S. Macé, et al. 2021. « Asymptomatic carriage of *C. botulinum* type D/C in broiler flocks as the source of contamination of a massive botulism outbreak on a dairy cattle farm ». *Frontiers Microbiology* 12 (1753). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.679377>.
- Souillard, R., C. Le Marechal, L. Balaine, S. Rouxel, T. Poezevara, V. Ballan, M. Chemaly, et S. Le Bouquin. 2020. « Manure contamination with *Clostridium botulinum* after avian botulism outbreaks : management and potential risk of dissemination ». *Veterinary Record* 187 (6) : 233-233. <https://doi.org/10.1136/vr.105898>.
- Stringer, S. C., A. T. Carter, M. D. Webb, E. Wachnicka, L. C. Crossman, M. Sebaihia, et M. W. Peck. 2013. « Genomic and physiological variability within group II (non-proteolytic) *Clostridium botulinum* ». *BMC Genomics* 14 (1) : 333. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-333>.
- Sugiyama, H., T. L. Bott, et E. M. Foster. 1970. « *Clostridium botulinum* type E in an inland bay (Green Bay of lake Michigan) ». Dans *Proceedings of the first U.S.-Japan conference on toxic micro-organisms, mycotoxins, botulism*. Sous la direction de M. Herzberg, 287-291. Program in Natural Resources and U.S. Department of Interior, Washington, DC.
- Takeda, M., K. Tsukamoto, T. Kohda, M. Matsui, M. Mukamoto, et S. Kozaki. 2005. « Characterization of the neurotoxin produced by isolates associated with avian botulism ». *Avian Diseases* 49 (3) : 376-81. <https://doi.org/10.1637/7347-022305R1.1>.
- Tehran, D. A., et M. Pirazzini. 2018. « Novel botulinum neurotoxins : exploring underneath the Iceberg tip ». *Toxins (Basel)* 10 (5) : 190. <https://doi.org/10.3390/toxins10050190>.
- Tevell Åberg, A., I. Karlsson, et M. Hedeland. 2021. « Modification and validation of the Endopep-mass spectrometry method for botulinum neurotoxin detection in liver samples with application to samples collected during animal botulism outbreaks ». *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 413 : 345-354. <https://doi.org/10.1007/s00216-020-03001-z>.
- Torgersen, Y., et T. Håstein. 1995. « Disinfection in aquaculture ». *Revue scientifique et technique (International office of epizootics)* 14 (2) : 419-34. <https://doi.org/10.20506/rst.14.2.845>.
- Touchart, L., et P. Bartout. 2020. « Les aspects positifs des étangs ». Dans *La gestion écologique des rivières françaises, regards de scientifiques sur une controverse*. L'Harmattan, 201-20. Paris. <https://hal.science/hal-03086959>.
- Uriarte, A., J-L. Thibaud, et S. Blot. 2010. « Botulism in 2 urban dogs ». *The Canadian Veterinary Journal* 51 (10) : 1139-42.
- US EPA. 2012. « Type E botulism outbreaks : a manual for beach managers and the public ». Great Lakes national program office (CLNPO). U.S. Environmental protection agency.
- Uzal, F. A., E. Henderson, et J. Asin. 2024. « Botulism in fish: a review ». *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 36 (3) : 312-18. <https://doi.org/10.1177/10406387241236725>.
- Ventujol, A., A. Decors, C. Le Maréchal, J. Y. Toux, V. Allain, C. Mazuet, M. H. Bayon-Auboyer, S. Le Bouquin, et R. Souillard. 2017. « Le botulisme aviaire en France : étude des cas signalés dans la faune sauvage et dans les élevages par deux réseaux de surveillance entre 2000 et 2013 ». *Bulletin épidémiologique santé animale - Alimentation* 72 : 85-102.
- Vidal, D., I. Anza, M. A. Taggart, E. Pérez-Ramírez, E. Crespo, U. Hofle, et R. Mateo. 2013. « Environmental factors influencing the prevalence of a *Clostridium botulinum* type C/D mosaic strain in nonpermanent Mediterranean wetlands ». *Applied and Environmental Microbiology* 79 (14) : 4264-71. <https://doi.org/10.1128/AEM.01191-13>.
- Vidal, D., M. A. Taggart, I. Badiola, et R. Mateo. 2011. « Real-time polymerase chain reaction for the detection of toxigenic *Clostridium botulinum* type C1 in waterbird and sediment

- samples : comparison with other PCR techniques ». *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 23 (5) : 942-46. <https://doi.org/10.1177/1040638711416847>.
- Volponi, S., M. A. De Marco, R. Benigno, E. Savorelli, M. Frasnelli, L. Fiorentini, G. Tosi, et al. 2024. « Ecology and management of a large outbreak of avian botulism in wild waterbirds in Northeastern Italy (2019–2022) ». *Animals* 14 (16) : 2291. <https://doi.org/10.3390/ani14162291>.
- Wachnicka, E., S. C. Stringer, G. C. Barker, et M. W. Peck. 2016. « Systematic assessment of nonproteolytic *Clostridium botulinum* spores for heat resistance ». *Applied and Environmental Microbiology* 82 (19) : 6019-29. <https://doi.org/10.1128/aem.01737-16>.
- Wijesinghe, R. U., R. J. Oster, S. K. Haack, L. R. Fogarty, T. R. Tucker, et S. C. Riley. 2015. « Spatial, temporal, and matrix variability of *Clostridium botulinum* type E toxin gene distribution at Great Lakes beaches ». *Applied and Environmental Microbiology* 81 (13) : 4306-15. <https://doi.org/10.1128/AEM.00098-15>.
- Wobeser, G. 1997. « Avian botulism - Another perspective ». *Journal of Wildlife Diseases* 33 (2) : 181-86. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-33.2.181>.
- Wobeser, G., S. Marsden, et R. J. MacFarlane. 1987. « Occurrence of toxigenic *Clostridium botulinum* type C in the soil of wetlands in Saskatchewan ». *Journal of Wildlife Diseases* 23 (1) : 67-76. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-23.1.67>.
- Woo, G. H., H. Y. Kim, Y. C. Bae, Y. H. Jean, S. S. Yoon, E. J. Bak, E. K. Hwang, et Y. S. Joo. 2010. « Outbreak of botulism (*Clostridium botulinum* type C) in wild waterfowl : Seoul, Korea ». *Journal of Wildlife Diseases* 46 (3) : 951-55. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-46.3.951>.
- Work, T. M., J. L. Klavitter, M. L. Reynolds, et D. Blehert. 2010. « Avian botulism : a case study in translocated endangered Laysan ducks (*Anas laysanensis*) on Midway Atoll ». *Journal of Wildlife Diseases* 46 (2) : 499-506. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-46.2.499>.
- Woudstra, C., H. Skarin, F. Anniballi, L. Fenicia, L. Bano, I. Drigo, M. Koene, M.-H. Bâyon-Auboyer, J.-P. Buffereau, et D. De Medici. 2012. « Neurotoxin gene profiling of *Clostridium botulinum* types C and D native to different countries within Europe ». *Applied and Environmental Microbiology* 78 (9) : 3120-27. <https://doi.org/10.1128/AEM.07568-11>.
- Wurts, W. A., et M. P. Masser. 2013. « Liming ponds for aquaculture ». *Agricultural and Food Sciences, Environmental Science*. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:31305307>.
- Yamakawa, K., et S. Nakamura. 1992. « Prevalence of *Clostridium botulinum* type E and coexistence of *C. botulinum* nonproteolytic type B in the river soil of Japan ». *Microbiology and Immunology* 6 (36) : 583-91. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.1992.tb02058.x>.
- Yndestad, M., A. Helgebostad, et G. Loftsgård. 1977. « Susceptibility of foxes to *Clostridium botulinum* type C and E toxins ». *Acta Veterinaria Scandinavica* 18 (1) : 23-30. <https://doi.org/10.1186/BF03548462>.
- Yule, A. M., J. W. Austin, I. K. Barker, B. Cadieux, et R. D. Moccia. 2006. « Persistence of *Clostridium botulinum* neurotoxin type E in tissues from selected freshwater fish species : implications to public health ». *Journal of Food Protection* 69 (5) : 1164-67. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-69.5.1164>.
- Yule, A. M., I. K. Barker, J. W. Austin, et R. D. Moccia. 2006. « Toxicity of *Clostridium botulinum* type E neurotoxin to Great Lakes fish : implications for avian botulism ». *Journal of Wildlife Diseases* 42 (3) : 479-93. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-42.3.479>.
- Yule, A. M., V. LePage, J. W. Austin, I. K. Barker, et R. D. Moccia. 2006. « Repeated low-level exposure of the round goby (*Neogobius melanostomus*) to *Clostridium botulinum* type E neurotoxin ». *Journal of Wildlife Diseases* 42 (3) : 494-500. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-42.3.494>.

- Zechmeister, T. C., A. K. Kirschner, M. Fuchsberger, S. G. Gruber, B. Suess, R. Rosengarten, F. Pittner, R. L. Mach, A. Herzig, et A. H. Farnleitner. 2005. « Prevalence of botulinum neurotoxin C1 and its corresponding gene in environmental samples from low and high risk avian botulism areas ». *Altex* 22 (3) : 185-95.
- Zhang, S., F. Lebreton, M. J. Mansfield, S. I. Miyashita, J. Zhang, J. A. Schwartzman, L. Tao, et al. 2018. « Identification of a botulinum neurotoxin-like toxin in a commensal strain of *Enterococcus faecium* ». *Cell Host & Microbe* 23 (2) : 169-176. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2017.12.018>.
- Zulkifly, S., A. Hanshew, E. B. Young, P. Lee, M. E. Graham, M. E. Graham, M. Piotrowski, et L. E. Graham. 2012. « The epiphytic microbiota of the globally widespread macroalga *Cladophora glomerata* (Chlorophyta, Cladophorales) ». *American Journal of Botany* 99 (9) : 1541-52. <https://doi.org/10.3732/ajb.1200161>.

ANNEXES

Annexe 1 : Lettre de saisine



2019-SA-0115



MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION

Direction générale de l'alimentation
Mission des urgences sanitaires

Suivi par : Lilian Calvo
Tel : 01 49 55 84 54

mus.dgal@agriculture.gouv.fr

251 rue de Vaugirard
75732 PARIS CEDEX 15

Le Directeur général de l'alimentation

à

Monsieur le Directeur Général de l'Agence
nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,
de l'environnement et du travail

Paris, 25 JUIN 2019

Objet : Mise à jour des mesures de gestion de cas botulisme dans faune sauvage.

Conformément aux dispositions de l'article L. 1313-1 et 1313-3 du Code de la santé publique j'ai l'honneur de solliciter l'avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur une demande d'actualisation de connaissances relative au risque pour la santé publique liée à la présence des oiseaux sauvages potentiellement contaminés par le *C. Botulinum* et les mesures de gestion et recommandations à mettre en place selon les types toxiques C, D, C/D, E.

Les cas de botulisme de type C et/ou D en élevage bovin et de volailles sont fréquents en France avec dans certains cas des impacts non négligeables pour l'élevage infecté. Le botulisme de type mosaïque C/D est dominant chez les oiseaux sauvages. Par ailleurs, depuis l'émergence de cette maladie (type E) en 1997, en élevage avicole, une surveillance continue est devenue nécessaire afin d'identifier au préalable l'éventuelle survenue d'un nouveau type de toxine ou d'une éventuelle source de contamination d'origine alimentaire.

Actuellement en France, le botulisme est classé comme un danger sanitaire de première catégorie pour toutes les espèces sensibles. Et, à ce jour, dans le diagnostic de botulisme animal sont recherchés les types toxiques suivants :

- Volaille et avifaune : C, D, C/D, D/C et E
- Bovin : C, D, C/D, D/C

En 2002, l'Afssa a publié une évaluation du risque sanitaire relative au risque de transmission à l'homme de *C. botulinum* à partir de la consommation de produits provenant d'un lot d'animaux atteints de cette maladie dans les filières aviaire et bovine, ainsi que quelques données épidémiologiques telles que le mode de contamination, les symptômes et les mesures de prévention chez les oiseaux sauvages.

Postérieurement, dans sa réponse à la saisine du 23 octobre 2008, d'une part, l'Afssa s'est prononcée, fixant des mesures techniques et administratives relatives à la lutte contre le botulisme aviaire, et a notamment distingué des mesures de gestion selon le type de toxine botulinique identifiée (C, D, E, A, ou B) ; d'autre part, elle a procédé à une évaluation du risque lié à l'utilisation de certains produits (œufs de consommation, œufs à couvrir, viandes et intestins) issus d'animaux sains provenant d'un foyer confirmé de botulisme.

Depuis aout 2018, les gènes codant pour les toxines C/D et E (le type E est impliqué dans les cas de botulisme humain) ont été détectés dans 3 foyers différents en faune sauvage. C'est la première fois que ce cas de figure se présente et les mesures de gestion n'ont pas été prévues.

Plusieurs questions se posent :

- Quel est le risque pour la santé publique lors de la manipulation de ces animaux lors de leur consommation ? Il est à noter que la recherche de botulisme dans l'avifaune n'est pas systématique (gibier sauvage) mais mise en œuvre que lors de mortalité groupées.
- La présence des cadavres potentiellement contaminés par des spores de *C. botulinum* du type C, D, C/D ou E au bord des plans d'eaux représente-t-elle un risque pour la santé publique liée à la consommation de poissons ou lors d'activités de loisirs ?
- A ce jour, les recommandations données pour limiter l'épisode animal sont le ramassage des cadavres ainsi que le chaulage de la zone où les animaux ont été trouvés. Quelles autres préconisations peuvent être apportées, notamment auprès des chasseurs pour limiter ce risque ?

Je vous remercie de bien vouloir apporter votre réponse d'ici le 1er mai 2021.



Le Directeur Général de l'Alimentation

Bruno FERREIRA



AGENCE NATIONALE DE SÉCURITÉ SANITAIRE
de l'alimentation, de l'environnement et du travail
14 rue Pierre et Marie Curie 94701 Maisons-Alfort Cedex
www.anses.fr