

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 *

Ventujol Aurélie¹, Decors Anouk², Le Maréchal Caroline¹, Toux Jean Yves¹, Allain Virginie¹,
Mazuet Christelle³, Bayon-Auboyer Marie-Hélène⁴, Le Bouquin Sophie¹ et Souillard Rozenn¹



RÉSUMÉ

Entre 2000 et 2013, en France, 129 foyers de botulisme ont été signalés chez les oiseaux sauvages et 396 chez les volailles respectivement par les réseaux d'épidémiologie SAGIR (« Surveiller et Agir ») et RNOEA (Réseau National d'Observations Epidémiologiques en Aviculture). Vingt-neuf espèces d'oiseaux sauvages et huit espèces de volailles ont été affectées, principalement les canards colverts et les poulets de chair. La famille des anatidés représentait 85 % des oiseaux sauvages autopsiés dans le cadre du réseau SAGIR. La plupart des foyers ont été rapportés en été et la mortalité a pu dépasser 200 oiseaux par foyer dans la faune sauvage. La toxine la plus fréquemment identifiée dans les foyers était de type « C » chez les oiseaux sauvages (43 % des foyers avec toxine identifiée) et chez les volailles (62 % des foyers avec toxine identifiée). D'après l'analyse bivariée, les cas de botulisme chez les anatidés sauvages étaient significativement associés aux facteurs suivants : l'été, un bon état physiologique, le milieu humide, le régime alimentaire granivore, les canards de surface et l'espèce canard colvert. Cet état des lieux du botulisme aviaire a permis d'obtenir une image descriptive des épisodes de botulisme dans la faune sauvage et en élevage en France de 2000 à 2013.

Mots-clés : botulisme aviaire, surveillance épidémiologique, volailles, oiseaux sauvages, France.

ABSTRACT

Between 2000 and 2013, in France, the SAGIR ("Monitor and Act") and the RNOEA (French Epidemiological Surveillance Network in Poultry) networks recorded respectively 129 outbreaks of botulism in wild birds and 396 in poultry. In total, 29 species of wild birds and 8 species of poultry were affected by these outbreaks, in particular mallard ducks and broilers. 85% of the autopsied wild birds were Anatidae. Most outbreaks occurred during the summer and mortality rates could reach more than 200 deaths in wild bird's outbreaks. Type "C" toxin was the most frequently identified in wild birds (49%) and poultry (62%) outbreaks. A significant association was found in our study with a bivariate analysis between botulism in Anatidae and the following factors: summer, good body condition, found near water, granivorous, dabbling duck and mallard duck. This study resulted in a descriptive image of avian botulism outbreaks in France between 2000 and 2013.

Keywords: Avian Botulism, Epidemiological Surveillance, Poultry, Wild Birds, France.



* Article reçu le 13 septembre 2017, accepté le 6 novembre 2017

¹ ANSES, Laboratoire de Ploufragan, Plouzané, 22440 Ploufragan, France

² ONCFS, Cité de l'agriculture, 45921 Orléans, France

³ Institut Pasteur, CNR Bactéries anaérobies et botulisme, 28 rue du Docteur Roux, 75724 Paris, France

⁴ LABOCEA, 7 rue du Sabo, 22 440 Ploufragan, France

I - INTRODUCTION

Le botulisme aviaire est considéré comme la maladie des oiseaux la plus importante en termes de mortalité [Rocke, 2006], particulièrement pour l'avifaune sauvage au sein de laquelle il est possible d'observer jusqu'à 50 000 oiseaux morts au cours d'un épisode [Rocke et Friend, 1999]. En Europe, le botulisme est devenu, ces dernières années, une maladie émergente préoccupante [Skarin *et al.*, 2013a] pouvant entraîner des pertes économiques majeures dans les élevages de volailles [Le Maréchal *et al.*, 2016].

Le botulisme est une maladie paralytique causée par des neurotoxines botuliques (BoNTs) produites essentiellement par *Clostridium botulinum*, une bactérie anaérobie et sporulante [Hatheway, 1993]. Une paralysie flasque progresse crânialement en commençant par les pattes, atteignant les ailes, le cou et les paupières, jusqu'à la mort par insuffisance cardiaque ou respiratoire [Skarin *et al.*, 2013b].

Deux modes de contamination ont été décrits et peuvent coexister chez les oiseaux [Skarin *et al.*, 2015] : l'ingestion de la toxine préformée, notamment par cannibalisme des carcasses [Blandford et Roberts, 1970 ; Soos et Wobeser, 2006] et la toxicoinfection due à une colonisation du caecum par la bactérie *C. botulinum* avec production de BoNTs *in situ* [Skarin *et al.*, 2015].

Les symptômes du botulisme sont évocateurs mais non spécifiques. Ainsi, le diagnostic du botulisme aviaire ne peut reposer uniquement sur l'observation des signes cliniques ; afin de confirmer la maladie, il est nécessaire d'avoir recours à une analyse réalisée par des laboratoires spécialisés. En France, il s'agit du Centre national de référence des bactéries anaérobies et du botulisme à l'Institut Pasteur à Paris, des laboratoires départementaux (principalement le Laboce, à Ploufragan,) et du Laboratoire national de référence à l'Anses de Ploufragan (LNR) mis en place en 2012. La confirmation en laboratoire peut se faire soit en démontrant la présence de la toxine botulique dans le sérum, le contenu intestinal ou le foie, soit en démontrant la présence de clostridies capables de produire la toxine botulique dans le contenu gastro-intestinal ou le foie des animaux malades [Anniballi *et al.*, 2013]. Les méthodes communément utilisées en France pour confirmer le botulisme aviaire sont le test de létalité sur souris couplé soit à la PCR soit à la séroneutralisation sur souris afin d'identifier le type de toxine en cause. Cette dernière est la méthode de référence pour confirmer la présence

et identifier le type de BoNT. Cependant, il s'agit d'une méthode chronophage, coûteuse et qui soulève des questions éthiques. Par conséquent, la PCR, qui permet d'identifier le gène de la toxine, est de plus en plus utilisée et de nouvelles méthodes de PCR plus sensibles ont été développées [Woudstra *et al.*, 2012 ; Anniballi *et al.*, 2013] et récemment validées par le LNR [Le Maréchal *et al.*, 2017].

À l'heure actuelle, sept types de toxines botuliques ont été caractérisées (A à G) et la caractérisation moléculaire de *Clostridium botulinum* a permis de distinguer les formes mosaïques C/D et D/C [Moriishi *et al.*, 1996 ; Takeda *et al.*, 2005]. Alors que le botulisme humain est principalement associé aux BoNT A, B, E et F [Skarin *et al.*, 2013b], le botulisme aviaire, quant à lui, est principalement provoqué par les types C [Mitchell et Rosendal, 1987 ; Rocke et Friend, 1999] et C/D. Le type mosaïque C/D est actuellement prédominant en Europe chez les oiseaux sauvages aquatiques et chez les volailles. Le botulisme aviaire peut également être provoqué par les types D, D/C [Skarin *et al.*, 2010 ; Woudstra *et al.*, 2012] et E, pour lequel notamment des épisodes sporadiques ont été rapportés chez les oiseaux piscivores [Lan Chun *et al.*, 2015 ; Rocke et Friend, 1999].

Deux réseaux contribuent à la surveillance des foyers de botulisme aviaire en France : le réseau SAGIR « Surveiller et Agir » pour la faune sauvage et le Réseau national d'observations épidémiologiques en aviculture (RNOEA) pour les volailles domestiques.

Le réseau SAGIR est un réseau d'épidémiosurveillance événementielle généraliste des oiseaux et des mammifères sauvages terrestres en France créé en 1986. Ce réseau est le résultat d'une collaboration entre les Fédérations des chasseurs, l'Office national de la chasse et de la faune sauvage (ONCFS) et les laboratoires vétérinaires départementaux [Lamarque *et al.*, 2000]. La surveillance peut être renforcée et fondée sur le risque dans le cadre d'une surveillance ciblée, comme dans le cas de l'influenza aviaire hautement pathogène H5N8 en 2016 et 2017 [Decors *et al.*, 2015].

Le RNOEA est également un réseau d'épidémiosurveillance événementielle qui permet de suivre l'évolution épidémiologique des maladies aviaires en France grâce aux observations transmises de manière volontaire par ses

correspondants (environ 50 laboratoires vétérinaires et des vétérinaires de terrain). Il a été créé en 1987 et est animé par l'Unité Epidémiologie et bien-être en aviculture et cuniculture (EBEAC) de l'Anses Ploufragan. Il permet de surveiller l'évolution des maladies aviaires en France, de détecter l'émergence de nouvelles maladies, de produire des informations épidémiologiques pour les filières avicoles et d'orienter les projets de recherche. Les laboratoires d'analyses vétérinaires transmettent des données quantitatives en nombre de cas de maladies aviaires observées. Les vétérinaires du terrain transmettent des préoccupations sanitaires : il s'agit de données qualitatives relatives à des situations inhabituelles ou émergentes observées sur le terrain.

En 2006, le botulisme est devenu en France une maladie à déclaration obligatoire (MDO) pour les oiseaux sauvages et une maladie réputée contagieuse (MRC) pour les volailles (décrets n° 2006-179 et n° 2006-178 du 17 février 2006). Dans

la plupart des autres pays européens, le botulisme animal n'est pas à déclaration obligatoire [Anniballi *et al.*, 2013]. Depuis 2013, il est un danger sanitaire de première catégorie pour toutes les espèces animales sensibles en France (arrêté du 29 juillet 2013). Cependant, peu de données sont actuellement disponibles sur la situation épidémiologique du botulisme aviaire en France et en Europe [Anniballi *et al.*, 2013].

Ainsi, cette étude a pour objectif de :

1. réaliser un état des lieux des cas de botulisme aviaire signalés dans la faune sauvage et en élevage entre 2000 et 2013 à partir des données des réseaux d'épidémiosurveillance en France, et
2. pour l'avifaune sauvage, d'identifier les caractéristiques environnementales et individuelles associées au botulisme des anatidés.

II - MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. LES DONNÉES ISSUES DES RÉSEAUX SAGIR ET RNOEA

1.1 RÉSEAU SAGIR

Les données sur la faune sauvage provenaient d'une extraction de la base de données des animaux autopsiés dans le cadre du réseau SAGIR. Cette extraction de 2000 à 2013 a été réalisée sur le critère de la « cause de mort » de l'animal autopsié. La « cause de mort » d'un animal reposait sur les commémoratifs de la découverte, des signes cliniques, des lésions et d'éventuelles analyses complémentaires. Ainsi, tous les oiseaux autopsiés, pour lesquels la cause de mort était le botulisme (indépendamment du degré de certitude du diagnostic), ont été extraits de la base de données du réseau SAGIR. Le tableau brut contenait ainsi 2 639 lignes et 29 variables caractérisant les cas de botulisme. Chaque ligne correspondait à un résultat pour un animal (soit une lésion, soit le résultat d'un examen complémentaire) : chaque animal était donc décrit par plusieurs lignes. De plus, la famille

des anatidés étant la plus touchée par le botulisme, une extraction de tous les anatidés autopsiés dans le cadre du réseau SAGIR de 2000 à 2013 a également été mise à disposition par l'ONCFS afin de pouvoir comparer les caractéristiques des anatidés atteints de botulisme aux autres anatidés.

1.2 RNOEA

Les données recueillies pour les volailles résultaient d'une extraction des signalements des cas de botulisme par les laboratoires au RNOEA de 2000 à 2013. Les préoccupations sanitaires des vétérinaires fondées sur des observations terrain, ne permettant pas une approche quantitative, n'ont pas été prises en compte dans l'étude. La base de données brutes contient ainsi 396 lignes et six variables caractérisant les cas de botulisme. Chaque ligne correspondait à un foyer de botulisme, c'est-à-dire à un cas de botulisme dans un élevage de volailles.

2. TRAITEMENT DES DONNÉES

2.1 NETTOYAGE DES BASES DE DONNÉES

Le nettoyage des bases de données a été effectué avec les programmes R version 3.3.2 et R studio version 1.0.136.

Du fait de la complexité de la base de données provenant du réseau SAGIR, un important travail de nettoyage a été nécessaire dont l'attribution d'un même numéro de foyer à tous les oiseaux trouvés dans une même zone géographique (même code INSEE) et dans un intervalle de 45 jours. Un regroupement des modalités en classes a égale-

ment été effectué pour certaines variables.

Après le premier nettoyage, la base de données SAGIR contenait 488 lignes, correspondant à 488 oiseaux autopsiés de 2000 à 2013 pour lesquels le botulisme avait été identifié comme étant la « cause de mort », et 15 variables descriptives (tableau 1). Ces oiseaux étaient répartis en 235 foyers. Afin de maintenir une pression d'observation constante de 2000 à 2013, huit foyers composés d'oiseaux provenant de la surveillance événementielle renforcée pour l'influenza aviaire menée en 2006 ont été identifiés et retirés de la base.

Tableau 1
Variables après nettoyage de la base de données SAGIR

Variable	Signification	Modalités
3	Identifiant du foyer	-
Animal	Identifiant de l'animal	-
A_Date	Date de la découverte de l'animal	-
F_INSEE	Code INSEE du foyer	-
F_Milieu	Milieu du foyer	0. Plan d'eau, 1. Autre, 2. Mixte (Plan d'eau + Autre)
A_Famille	Nom de la famille de l'oiseau	-
A_Espèce	Nom de l'espèce de l'oiseau	-
A_Age	Age de l'animal	0. Jeune, 1. Adulte, 2. Indéterminé
A_Sexe	Sexe de l'animal	0. Mâle, 1. Femelle, 2. Indéterminé
A_EtatPhysio	Etat physiologique de l'animal	0. Mauvais, 1. Bon, 2. Indéterminé
A_Etat_prelev	Etat du prélèvement	0. Mauvais, 1. Bon, 2. Indéterminé
F_Mortalité	Nombre de morts dans le foyer	-
A_Test	Méthode diagnostique du laboratoire	1. Léthalité 2.PCR, 3.Séroneutralisation, 4.Inconnu, 5.Non effectué
A_Résultat	Résultat du test	1. Positif, 0.Négatif, NR. Non Renseigné
A_Toxine	Type de toxine si identifiée	-

Des 227 foyers restants, pour lesquels la « cause de mort » était le botulisme et issus uniquement de la surveillance généraliste du réseau SAGIR, seuls 129 foyers avaient été confirmés en laboratoire par un test de létalité sur souris, une séroneutralisation sur souris ou une PCR. Dans les 98 autres foyers, soit l'agent du botulisme n'avait pas été recherché, soit le résultat du laboratoire était négatif ou non renseigné. Afin de ne décrire que les cas avérés de

botulisme, et de pouvoir ainsi comparer les oiseaux sauvages avec les volailles, seuls les 129 foyers confirmés ont été retenus.

Aucun nettoyage n'a été nécessaire pour la base de données du RNOEA. Six variables descriptives caractérisent les 396 foyers de botulisme signalés au RNOEA (tableau 2).

Tableau 2
Variables de la base de données RNOEA

Variable	Signification	Modalités
Référence Anses	Identifiant du foyer	-
Date	Date de déclaration de la maladie	-
Département	Numéro du département du foyer	-
Espèce	Type de production	<i>Gallus</i> , Dindes, Canards, Oies, Caille, Perdrix, Pintade, Faisan
Etage	Etage de production	Chair, Reproduction, Pondeuse
Pathogène(s)	Type de toxine	-

2.2 ANALYSE DESCRIPTIVE, STATISTIQUES ET CARTOGRAPHIE

Une analyse descriptive des foyers de botulisme aviaire a été réalisée à partir des deux bases de données SAGIR et RNOEA à l'aide des programmes R version 3.3.2 et R studio version 1.0.136. L'évolution des foyers de botulisme a été décrite dans le temps et leurs principales caractéristiques ont été mises en évidence à partir de diagrammes. Des cartes ont également été réalisées à l'aide du

programme QGIS 2.18.7 afin de situer les foyers de botulisme de 2000 à 2013 dans l'espace. Enfin, des tests du khi-deux (avec un seuil de probabilité pour le risque alpha de 0,05) ont été effectués afin d'évaluer le lien entre certaines modalités et le botulisme des anatidés sauvages. À cet effet, certaines caractéristiques environnementales et individuelles des anatidés sauvages atteints de botulisme ont été comparées à celles des autres anatidés sauvages autopsiés au cours de la même période.

III - RÉSULTATS

1. RÉPARTITION SPATIO-TEMPORELLE DES FOYERS DE BOTULISME

1.1 RÉPARTITION DANS LE TEMPS

En France de 2000 à 2013, 129 foyers confirmés de botulisme aviaire ont été signalés dans la faune sauvage au réseau SAGIR et 396 chez les volailles au réseau RNOEA. Dans les foyers identifiés dans la faune sauvage, 259 oiseaux ont été autopsiés (en moyenne deux par foyer, au minimum un et au maximum 13).

Dans l'avifaune sauvage, après un pic de 34 foyers en 2003, une diminution lente a été observée entre 2004 et 2006. De 2007 à 2012, un faible nombre de foyers (entre un et quatre) a été observé, suivi en

2013 par une nouvelle augmentation (n = 11) (figure 1).

Chez les volailles, 312 foyers ont été rapportés entre 2007 et 2011, ce qui représentait 79 % des foyers de volailles inclus dans l'étude. Un pic a été constaté en 2007 et en 2008 avec respectivement 83 et 86 foyers déclarés au RNOEA (figure 2).

En comparant la répartition des foyers de botulisme des oiseaux sauvages par année à celle des volailles, une tendance inverse est notée : alors que la majorité des foyers de l'avifaune sauvage a été relevée les sept premières années de l'étude (80 % de 2000 à 2006), la majorité des foyers chez les volailles l'a été dans les sept dernières (87 % de 2007 à 2013).

Figure 1

Répartition annuelle des foyers de botulisme chez les oiseaux sauvages signalés au réseau SAGIR (N = 129)

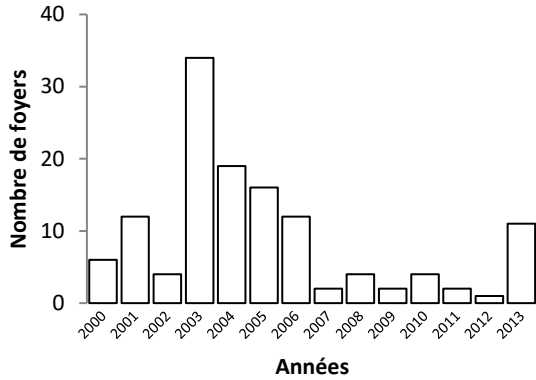
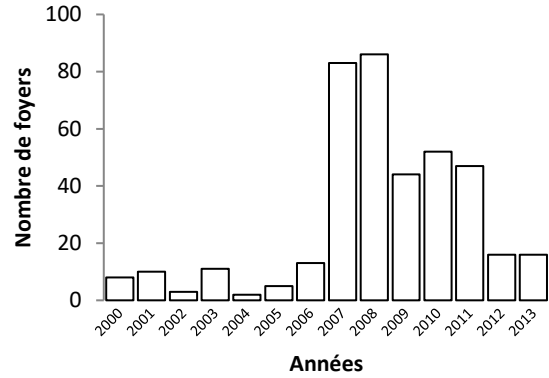


Figure 2

Répartition annuelle des foyers de botulisme chez les oiseaux d'élevage signalés au RNOEA (N = 396)



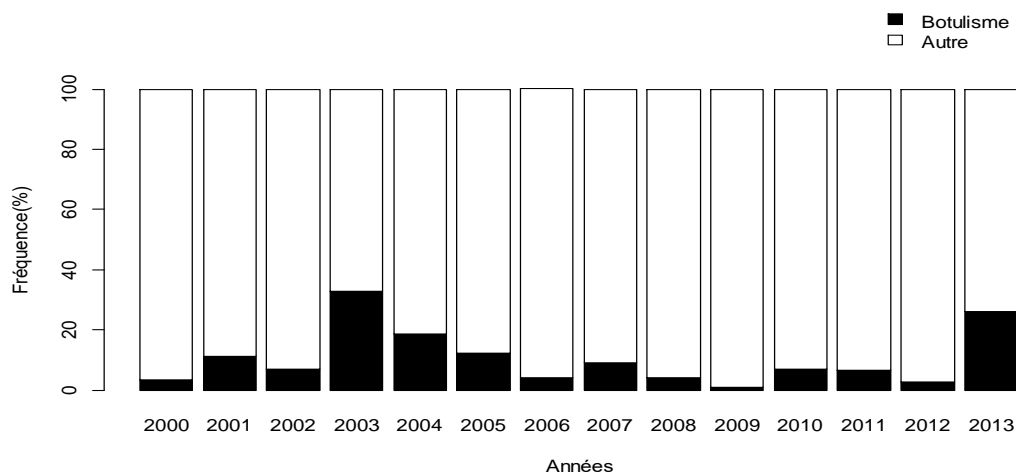
Les signalements de botulisme au RNOEA représentaient moins de 1% de l'ensemble des maladies signalées chez les volailles (de 0,02% en 2004 à 0,9% en 2008, avec une moyenne de 0,3%). Pour les oiseaux sauvages, la fréquence relative des foyers de botulisme confirmés par rapport à l'ensemble des sujets autopsiés dans le cadre du réseau SAGIR, a pu être calculée pour les anatidés, la principale famille d'oiseaux sauvages atteinte par le botulisme. Ainsi, les cas de botulisme confirmés représentaient en moyenne 10,4% de l'ensemble

des « causes de mort », avec un minimum de 0,9% en 2009 et un maximum de 33% en 2003.

La fréquence relative annuelle du botulisme chez les anatidés confirmait l'augmentation du nombre de signalements en 2003 et 2013 dans la faune sauvage. En effet, une fréquence plus importante de botulisme a été observée au cours de ces deux années avec respectivement 33% et 26% de signalement de botulisme chez les anatidés (figure 3).

Figure 3

Fréquence relative annuelle des signalements de botulisme chez les anatidés au réseau SAGIR



1.2 RÉPARTITION DANS L'ESPACE

La répartition spatiale des foyers de botulisme des oiseaux sauvages en France de 2000 à 2013 a révélé un nombre important de foyers dans la région Pays de la Loire (30 foyers dont 20 en Vendée) avec des foyers qui s'étendaient jusque dans la région du centre (n = 12). Des groupes de foyers ont également été observés dans les régions Midi-Pyrénées-Languedoc-Roussillon (n = 22), Nord-Pas-de-Calais-Picardie (n = 19), Provence-Alpes-Côte d'Azur (n = 13), et en Auvergne-Rhône-Alpes (n = 11). Le fond de carte signale les principales zones

humides en France (figure 4). Certains foyers étaient localisés dans des zones humides, notamment en Camargue et dans la vallée du Rhône.

Une importante concentration de foyers de botulisme chez les volailles de 2000 à 2013 a été signalée en Bretagne (n = 136) et dans les Pays de la Loire (n = 133), plus particulièrement dans le Morbihan (n = 62) et en Vendée (n = 85). Un nombre de signalements plus élevé a également été relevé dans les Landes (n = 18) et la Drôme (n = 11) (figure 5).

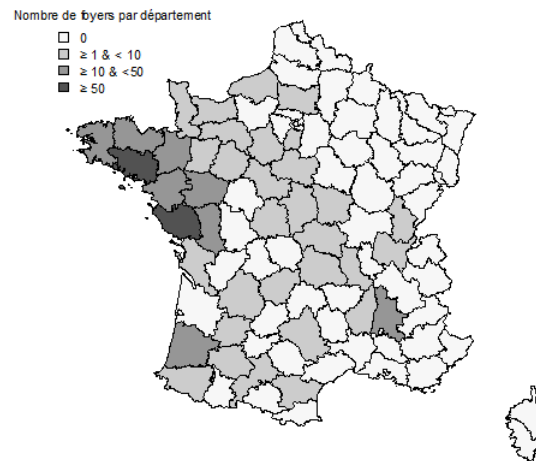
Figure 4

Répartition spatiale des foyers de botulisme des oiseaux sauvages signalés par le réseau SAGIR de 2000 à 2013



Figure 5

Répartition spatiale des foyers de botulisme chez les volailles signalés par le réseau RNOEA de 2000 à 2013



2. CARACTÉRISTIQUES DES FOYERS DE BOTULISME

2.1 LA SAISONNALITÉ DES FOYERS

Le botulisme aviaire a été majoritairement signalé en été. Une saisonnalité plus nette était observée dans la faune sauvage : les foyers de botulisme survenus en été représentaient 73 % des foyers alors que les foyers survenus en hiver ne représentaient que 2 % des foyers (figure 6). Chez les oiseaux d'élevage, les foyers de botulisme survenus en été représentaient 42 % des foyers (figure 7).

2.2 LE NOMBRE D'OISEAUX MORTS AU SEIN DES FOYERS

Le nombre d'oiseaux sauvages morts au sein d'un foyer n'était communiqué que lorsqu'un grand nombre d'oiseaux morts avaient été observé. Ainsi, il était supérieur à 200 morts dans 4 foyers, entre 50 et 200 morts pour 20 foyers et de 10 à 50 pour 48 foyers.

Le nombre d'oiseaux morts dans les lots de volailles n'a pas été recensé par le réseau RNOEA.

Figure 6

Saisonnalité des foyers de botulisme signalés
chez les oiseaux sauvages par le réseau SAGIR
de 2000 à 2013
(N = 129)

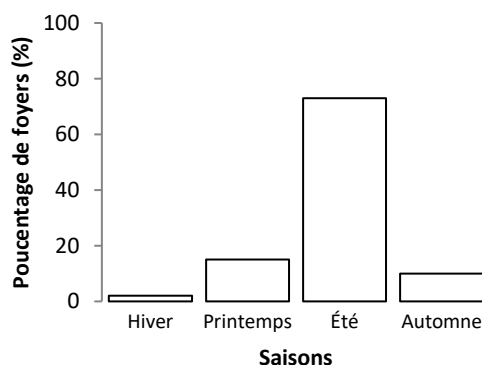
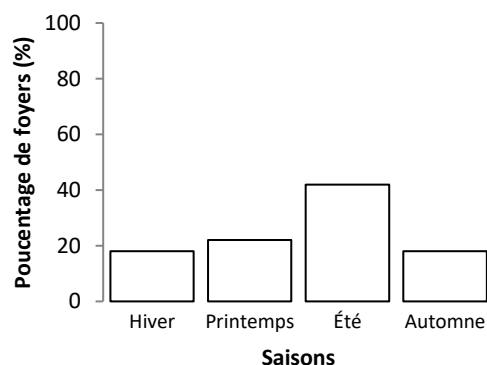


Figure 7

Saisonnalité des foyers de botulisme signalés
chez les volailles par le réseau RNOEA
de 2000 à 2013
(N = 396)



2.3 LES ANIMAUX ATTEINTS

2.3.1 Les oiseaux sauvages

Vingt-neuf espèces d'oiseaux sauvages, regroupées en neuf familles, ont été identifiées dans les foyers de botulisme reportés par le réseau SAGIR. La plus fréquente d'entre elles était le canard colvert (61 %). Ce dernier fait partie de la famille des anatidés qui regroupe en tout 15 espèces différentes dont d'autres canards, des oies, des sarcelles, des cygnes, des fuligules, des tadornes et

des nettes. Les anatidés représentaient 85 % des oiseaux issus de foyers de botulisme (tableau 3).

Au sein d'un foyer de botulisme, le nombre maximal d'espèces d'oiseaux identifiées était de cinq espèces.

Une grande majorité des foyers de botulisme des oiseaux sauvages (93 % parmi les foyers pour lesquels le milieu a été renseigné) a été identifiée à proximité d'un plan d'eau (figure 8).

Tableau 3

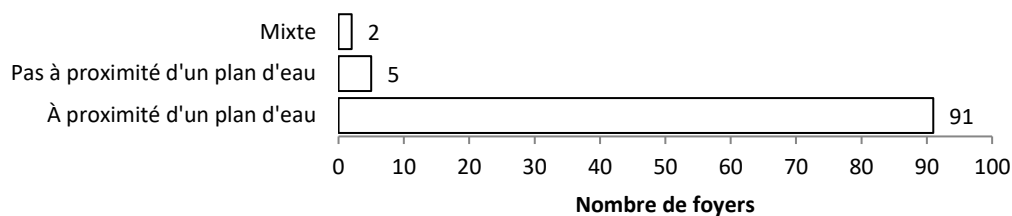
Répartition par famille des oiseaux sauvages issus des foyers de botulisme signalés au réseau SAGIR

Famille	Nombre d'espèces regroupées	Nombre (%)
Anatidae	15	220 (85)
Rallidae	2	17 (6,5)
Laridae	3	10 (3,8)
Phasianidae	1	4 (1,6)
Ardeidae	2	2 (0,8)
Corvidae	2	2 (0,8)
Scolopacidae	2	2 (0,8)
Charadriidae	1	1 (0,4)
Recurvirostridae	1	1 (0,4)

Figure 8

Répartition des milieux dans lesquels les foyers ont été identifiés

(N = 129, Non renseignés = 31)



Parmi les 91 foyers identifiés à proximité d'un plan d'eau, 84 étaient situés à proximité d'un plan d'eau statique (principalement un étang), cinq près d'un plan d'eau dynamique (principalement au bord d'une rivière) et un près d'un plan d'eau maritime. Pour un foyer, les oiseaux ont été retrouvés à proximité de milieux aquatiques de différentes

natures : un oiseau trouvé près d'un ruisseau et les autres au bord d'un étang.

Dans les foyers de botulisme de la faune sauvage, les oiseaux trouvés étaient majoritairement des adultes et des oiseaux en bon état physiologique (tableau 4).

Tableau 4

Répartition des caractéristiques des oiseaux sauvages issus des foyers de botulisme signalés au réseau SAGIR

(n = 259 oiseaux)

Variables	Effectif (%)	Pourcentage parmi les oiseaux pour lesquels la variable était renseignée
Age		
Jeunes	51 (20)	33,8
Adultes	100 (39)	66,2
<i>Non renseigné</i>	<i>108 (41)</i>	
Sexe		
Males	77 (30)	51,7
Femelles	72 (28)	48,3
<i>Non renseigné</i>	<i>110 (42)</i>	
Etat Physiologique		
Bon	145 (56)	84,8
Mauvais	26 (10)	15,2
<i>Non renseigné</i>	<i>88 (34)</i>	

2.3.2 Les volailles

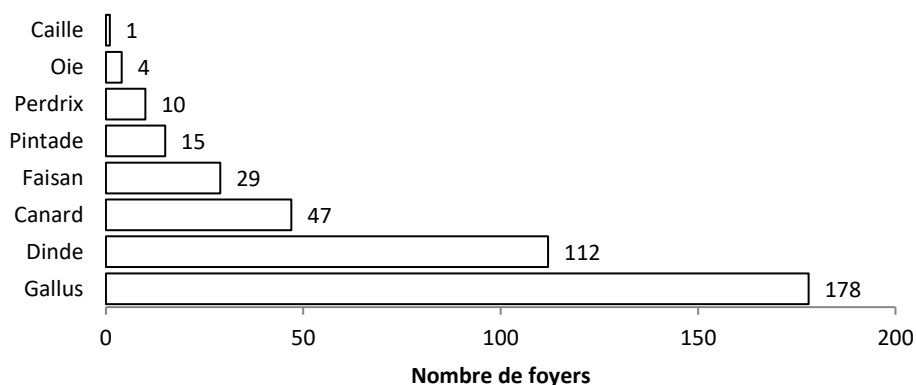
D'après les signalements du RNOEA les foyers de botulisme des volailles étaient le plus souvent des élevages de *Gallus gallus* (45 % des cas). La deuxième espèce la plus touchée par le botulisme

était la dinde (28 %), suivie du canard (12 %) (figure 9).

Les foyers de botulisme des *Gallus gallus* portaient majoritairement sur les poulets de chair (89 %), puis les poules pondeuses (8,5 %) et les reproducteurs (2,5 %).

Figure 9

Répartition des espèces de volailles dans les foyers de botulisme (N = 396)



2.4 LES TYPES DE TOXINE IDENTIFIÉS DANS LES FOYERS

Les données issues du réseau SAGIR comprenaient des informations sur les méthodes de diagnostic pour 113 des 259 oiseaux autopsiés. Les tests réalisés au laboratoire étaient : des tests de létalité sur souris ($n = 17$), de séroneutralisation sur souris ($n=76$) et des PCR ($n=74$). La séroneutralisation sur souris donnait plus souvent des résultats positifs que la PCR, avec respectivement 82 % de résultats positifs pour la séroneutralisation et 46 % pour la PCR (test du khi-deux, $p = 2 \times 10^{-5}$).

Pour les volailles, les tests effectués pour confirmer les cas de botulisme n'ont pas été collectés par le RNOEA.

Le type de toxine n'était communiqué que dans 50 % ($n = 65$) des foyers confirmés pour le réseau SAGIR et dans 55 % ($n = 221$) des foyers confirmés pour le réseau RNOEA.

Les toxines « C ou D » et « C » étaient les toxines les plus fréquemment retrouvées dans les foyers d'oiseaux sauvages : respectivement 33 et 28 foyers. En excluant les foyers pour lesquels le type de toxine n'a pas été communiqué, les types « C ou D » et « C » représentaient respectivement 50 % et 43 % des toxines identifiées dans les foyers (figure 10).

Parmi les foyers d'oiseaux d'élevages, c'est le type « C » qui était le plus fréquent : 137 foyers, soit 62 % des foyers pour lesquels le type de toxine a été identifié (figure 11).

Figure 10

Répartition des types de toxine dans les foyers signalés au réseau SAGIR

(N = 129)

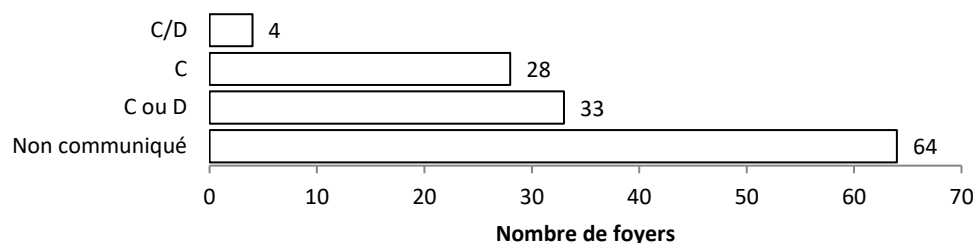
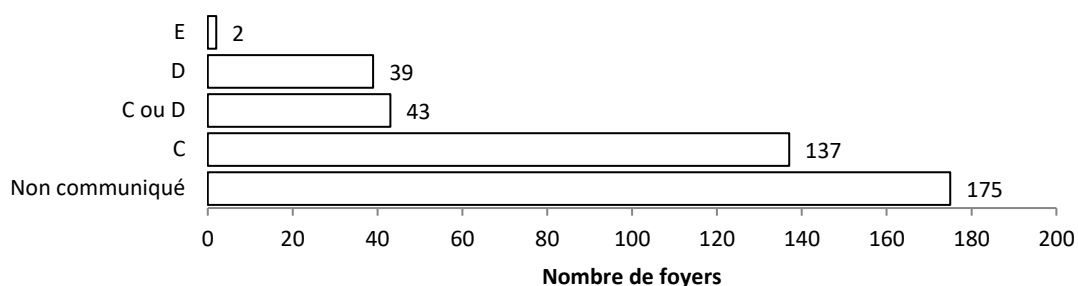


Figure 11

Répartition des types de toxine dans les foyers signalés au réseau RNOEA

(N = 396)



3. ÉTUDE DES CARACTÉRISTIQUES ASSOCIÉES AU BOTULISME DES ANATIDÉS

Les caractéristiques des anatidés issus de foyers confirmés de botulisme ont été comparées à celles des anatidés pour lesquels une autre « cause de mort » avait été signalée par le réseau SAGIR de 2000 à 2013. Cette comparaison a permis de mettre en évidence des liens statistiques entre certaines modalités et le fait que les anatidés soient issus d'un foyer confirmé de botulisme (tableau 5).

Il a été mis en évidence dans l'étude une association statistique brute entre le botulisme des anatidés et les facteurs suivants : la saison (l'été), l'état physiologique (bon), le milieu (proche d'un plan d'eau), l'alimentation (granivore), le type de canard (canard de surface) et l'espèce (colvert).

Il n'a pas été mis en évidence d'association significative brute entre l'« âge » des anatidés et le botulisme.

Tableau 5
Résultats des analyses bivariées pour le botulisme des anatidés

Variable	Effectif (%) des Anatidés morts de botulisme	Effectif (%) des Anatidés pour lesquels on a identifié une « autre cause de mort »	Odds ratio brut [Intervalle de confiance à 95 %]	p ^a
Saison				
Eté	186 (84)	670 (33)	10,9	<2,2 x 10 ⁻¹⁶
Autre saison	34 (16)	1333 (67)	[7,5 - 15,9]	
Milieu				
Proche d'un plan d'eau	166 (94)	1053(70)	7,1	2,2 x 10 ⁻¹⁴
Pas proche d'un plan d'eau	10(6)	452 (30)	[3,7 - 313,6]	
Type de canard				
Canard de surface	177 (89)	1240 (66)	4,3	8,6 x 10 ⁻¹³
Autre type de canard renseigné	22 (11)	629 (34)	[2,7 - 6,8]	
Alimentation				
Granivores	169 (85)	1187 (64)	3,3	1,0 x 10 ⁻¹⁰
Autre alimentation renseignée	29 (15)	677 (36)	[2,2 - 5,0]	
Espèce				
Colvert	157 (71)	1084 (54)	2,1	7,0 x 10 ⁻⁷
Autre espèce d'anatidé renseignée	63 (29)	919 (46)	[1,6 - 2,9]	
Etat physiologique				
Bon	122 (84)	1078 (75)	1,8	0,13
Mauvais	22 (16)	352 (25)	[1,1 - 2,9]	
Âge				
Adulte	91 (67)	845 (74)	0,7	0,09
Jeune	45 (33)	294 (26)	[0,48 - 1,03]	

^a Test du khi-deux pour les comparaisons de pourcentages

IV - DISCUSSION

1. LES DONNÉES ISSUES DES RÉSEAUX D'ÉPIDÉMIOLOGIE

Cette étude a permis de dresser pour la première fois un état des lieux du botulisme aviaire en France entre 2000 et 2013.

Il est important de mettre les résultats en perspective avec les caractéristiques des réseaux de surveillance à partir desquels les données ont été collectées ; le réseau SAGIR et le RNOEA fournissent une image descriptive des tendances sur l'évolution des maladies aviaires qui constituent des données épidémiologiques essentielles et uniques sur la situation sanitaire en France. Cependant, il s'agit de réseaux d'épidémiologie événementiels qui dépendent des observations effectuées par les

acteurs de terrain : principalement des chasseurs, des techniciens des Fédérations départementales de chasseurs et des agents de l'ONCFS pour le réseau SAGIR et des correspondants des laboratoires et vétérinaires volontaires pour le RNOEA. Par conséquent, certaines données, sont de nature subjective et non standardisées. Par exemple, l'état physiologique des oiseaux sauvages était caractérisé par l'état d'embonpoint apparent des oiseaux, qui dépend de l'appréciation des observateurs.

L'échantillonnage du réseau SAGIR peut être qualifié « d'échantillonnage opportuniste » [Dohoo *et al.*, 2003] étant donné que la découverte des cadavres dépend essentiellement de leur visibilité. Par conséquent, les données étudiées ne peuvent

être ni exhaustives ni représentatives de la population générale. Malgré ces limites, ces réseaux ont pour atouts, entre autres, leur couverture spatiale ainsi que la diversité des espèces d'oiseaux sauvages et de volailles surveillées.

Par ailleurs, le réseau SAGIR a la possibilité de moduler les pressions d'observation et de collecte en fonction des besoins [Decors *et al.*, 2015]. En effet, le réseau SAGIR peut renforcer sa surveillance sur une période définie et pour un objectif particulier, s'apparentant ainsi à de la surveillance programmée. C'est ce type de surveillance qui a été mis en œuvre en 2006 dans le cadre de l'influenza aviaire [Decors *et al.*, 2015]. Ainsi, pour pouvoir faire le postulat d'une pression d'observation constante sur la période considérée, tout oiseau issu de ce protocole de surveillance a été écarté de l'étude.

Malgré les biais de recrutement et d'analyse générés par les modes de surveillance de ces réseaux, ils ont pour avantage de disposer d'un grand nombre de données descriptives. Bien que n'étant pas exhaustives, ces données nous ont permis de décrire les foyers dans le temps, l'espace et de présenter le contexte épidémiologique des épisodes de botulisme aviaire en France. Néanmoins, de par les contraintes inhérentes à la surveillance, certaines données étaient manquantes. C'était principalement le cas pour les tests de laboratoire ou les type de toxine en cause dans les foyers de botulisme.

Un autre biais, qu'il convient de prendre en compte dans notre étude, provient de l'impossibilité de garantir l'indépendance des données, condition de validité des tests statistiques utilisés ; ceci en raison d'un éventuel effet « agrégat », qui pourrait surestimer les liens statistiques. En effet, l'unité épidémiologique pour l'analyse bivariée n'était plus le foyer mais l'anatidé sauvage, et les oiseaux d'un même foyer ne sont pas statistiquement indépendants.

Les foyers de botulisme de la base de données du réseau SAGIR n'ont pas tous été confirmés au laboratoire. En effet, pour certains, le botulisme a été recherché mais le résultat était négatif ou n'avait pas été renseigné, et pour d'autres, le botulisme n'a pas été recherché. La recherche du botulisme dépend essentiellement du contexte de la découverte, des éventuels enjeux de santé publique et aussi de l'état du prélèvement ; un lien entre un mauvais état du prélèvement et l'absence de recherche de botulisme a été mis en évidence (test du khi-deux, $p = 0,015$). Afin de garder une homogénéité dans notre étude, et étant donné que

tous les foyers de volailles du RNOEA ont été confirmés au laboratoire, il a été décidé de supprimer des bases tous les foyers d'oiseaux sauvages pour lesquels le botulisme n'a pas été confirmé au laboratoire. Cependant, le fait de n'avoir conservé que les foyers confirmés au laboratoire a certainement conduit à une sous-estimation du nombre de cas dans la faune sauvage. Dans un même souci d'homogénéité, seuls les cas signalés au RNOEA par les laboratoires ont été retenus ; les préoccupations vétérinaires ne correspondant pas à un nombre de cas de maladies, mais à des observations de situations sanitaires inhabituelles ou émergentes non quantifiées, n'auraient pas pu être comparées.

2. RÉPARTITION SPATIO-TEMPORELLE DES FOYERS DE BOTULISME

Le nombre de foyers signalés chez les volailles était plus important que le nombre de foyers signalés dans l'avifaune sauvage (respectivement 396 et 129 foyers de 2000 à 2013). Néanmoins, en termes de fréquence relative par rapport à l'ensemble des maladies, le botulisme est une maladie rarement signalée chez les volailles et la fréquence du botulisme relative à l'ensemble des maladies des anatidés sauvage déclarées au réseau SAGIR était nettement supérieure à celle des volailles d'élevage. Des pics de foyers de botulisme ont été constatés, et confirmés par la fréquence relative du botulisme, en 2003 et en 2013 chez les oiseaux sauvages. Le pic de 2003 pourrait être attribué à la canicule qui a sévi cette année-là. L'augmentation des cas en 2013 pourrait s'expliquer par une meilleure sensibilisation des acteurs de terrain liée à la diffusion, cette même année, des nouvelles approches diagnostiques du botulisme par PCR chez les oiseaux sauvages. Cependant, afin de pouvoir établir une bonne interprétation de cette augmentation de cas en 2013, le nombre de foyers atteints de botulisme des années suivantes serait nécessaire.

Les pics de botulisme relevés chez les oiseaux d'élevage en 2007 et en 2008 restent inexplicables. L'augmentation des déclarations de botulisme chez les volailles à partir de 2007 pourrait être due à une sensibilisation des acteurs de terrain consécutive à l'acquisition du statut MRC du botulisme en 2006. Par ailleurs, comme l'ont fait remarquer Anniballi *et al.* [2013], l'interdiction en 2006 de l'usage d'antibiotiques en vue d'améliorer la croissance et les performances des animaux pourrait également être à l'origine d'une augmentation des épisodes de

botulisme en Europe cette dernière décennie [Anniballi *et al.*, 2013].

Etant donné l'évolution inverse dans le temps du nombre de foyers de botulisme dans l'avifaune sauvage (80 % des foyers déclarés entre 2000 à 2006) et chez les volailles (87 % des foyers déclarés entre 2007 et 2013), il ne semble pas y avoir de lien épidémiologique entre eux. Toutefois, ne disposant pas de données de localisation et de date précise pour les volailles nous n'avons pas été en mesure d'étudier la relation entre la faune sauvage et les oiseaux d'élevage à une échelle spatio-temporelle plus rapprochée, ce qui aurait peut-être permis de mettre en évidence des liens entre certains foyers. De plus, pour pouvoir émettre l'hypothèse d'un lien épidémiologique entre les volailles et les oiseaux sauvages il faudrait également avoir recours au typage moléculaire des souches afin de les comparer.

Les foyers de botulisme dans l'avifaune sauvage étaient groupés dans cinq régions différentes et un nombre important de foyers a été constaté dans certaines zones humides telles que la vallée et le delta du Rhône. Ces regroupements peuvent être expliqués par le fait que les zones humides dans lesquelles il y a eu plusieurs épisodes de botulisme sont fortement contaminées par des spores et sont par conséquent plus à risque de récurrences [Wobeser *et al.*, 1987]. En effet, il a été démontré que *C. botulinum* est capable de survivre plusieurs décennies dans l'environnement [Okamoto *et al.*, 1999]. Cependant, il faut également prendre en compte que la surveillance du réseau SAGIR n'est pas quantifiée et n'est pas homogène entre les départements [Decors *et al.*, 2015] et l'on constate que les foyers de botulisme suivent la tendance de récolte des anatidés sauvages par le réseau SAGIR. D'après les données SAGIR, la plupart des foyers ont été détectés à proximité d'un plan d'eau avec une association significative brute entre le milieu proche d'un plan d'eau et le botulisme des anatidés. Il s'agissait essentiellement de plans d'eau statique, ce qui coïncide avec les facteurs favorisant la production de BoNTs, qui sont une salinité basse (niveau de Cl⁻ bas), un taux d'oxygène bas et une grande quantité de matières organiques [Vidal *et al.*, 2013].

Les foyers de botulisme chez les oiseaux d'élevage étaient majoritairement situés dans le Nord-Ouest de la France. Ces foyers coïncident avec les régions dans lesquelles il existe une plus forte proportion d'élevages de *Gallus gallus* et dindes (données Agreste 2010).

3. CARACTÉRISTIQUES DES FOYERS DE BOTULISME

Les épisodes de botulisme aviaire sont souvent imprévisibles, mais certains facteurs environnementaux, dont la température, sont connus comme facteurs de risque ; ainsi, une température externe de 40°C ou une température des milieux aquatiques supérieure à 20°C favoriserait la multiplication de *C. botulinum* de type C dans la carcasse des oiseaux [Soos et Wobeser, 2006 ; Rocke et Bollinger, 2007]. Effectivement, la majorité des foyers de notre étude ont été détectés en été. Ceci n'était pas dû à une collecte plus importante d'oiseaux en été ; en effet, la proportion d'anatidés sauvages collectés, toutes « causes de mort » confondues, se répartit relativement bien dans l'année (31 % en hiver, 18 % au printemps, 33 % en été et 18 % en automne). De plus, il existait une association significative dans notre échantillon entre l'été et le botulisme des anatidés sauvages. Une saisonnalité moins nette a été constatée chez les volailles : ceci pourrait s'expliquer par les variations de température moindres chez les animaux élevés à l'intérieur. L'influence de la température sur le nombre de foyers de botulisme est d'autant plus importante que, ainsi que l'ont fait remarquer Vidal *et al.*, cette maladie pourrait prendre de l'ampleur avec le réchauffement climatique [Vidal *et al.*, 2013].

Une mortalité supérieure à 200 oiseaux sauvages morts a été rapportée dans quatre foyers. Les mortalités de moins de 10 animaux dans notre base de données SAGIR n'étaient pas interprétables, car dans certains cas elles pouvaient correspondre uniquement au nombre d'animaux autopsiés. Par ailleurs, les données relatives à la mortalité n'ayant pas toujours été renseignées, il est possible que la mortalité ait été sous-estimée. De plus, le comptage des carcasses sous-estimerait la mortalité entre trois [Cliplef et Wobeser, 1993] et dix fois [Stutzenbaker *et al.*, 1986].

Il a été rapporté que les oiseaux sauvages les plus fréquemment atteints par le botulisme étaient les oiseaux aquatiques et les limicoles [Rocke, 2006]. Dans notre étude, les foyers de botulisme provenant de la faune sauvage étaient composés à 85 % d'anatidés ; en revanche, les limicoles n'étaient que peu représentés (1,6 % au total *Scolopacidés*, *Charadriidés* et *Recurvirostridés*). Ces résultats s'apparentent à ceux d'une étude dans l'État de New York dans laquelle 56 % d'Anseriformes et seulement 6,6 % d'oiseaux de rivage étaient atteints de botulisme [Shayegani *et al.*, 1984]. Il est possible que les cas de botulisme

chez les limicoles soient moins détectés que chez les anatidés car ces derniers sont présents en plus grande densité et sont généralement plus gros que les limicoles. D'après un modèle linéaire général élaboré par Anza *et al.* en 2016, les foulques, les canards colverts, les canards chipeau et les mouettes rieuses seraient les espèces les plus sensibles au botulisme. Dans notre étude, le canard colvert était l'espèce la plus atteinte de botulisme (61 %) ce qui est cohérent avec les résultats de l'étude de Vidal *et al.* en 2013 sur le botulisme dans les régions humides de Castilla de la Mancha en Espagne de 1978 à 2008 [Vidal *et al.*, 2013] et ceux de Woo *et al.* [2010] concernant une épidémie de botulisme en 2008 en Corée du Sud [Woo *et al.*, 2010]. De plus, l'analyse bivariée entre les anatidés atteints de botulisme et les autres anatidés autopsiés par le réseau au cours de la même période a révélé une association significative entre le botulisme et le canard colvert dans notre échantillon. Le colvert est une des espèces les plus abondantes dans les zones humides [Shayegani *et al.*, 1984 ; Rocke, 2006]. En France, où il se reproduit en nombre et où des lâchers importants sont réalisés, le colvert est particulièrement abondant. De plus, en été, période durant laquelle le botulisme est majoritairement observé, les autres espèces de canards ont migré vers le Nord de l'Europe pour la reproduction. Par conséquent, il est compréhensible que ce soit l'espèce la plus touchée par les épisodes de botulisme et qu'ils aient plus de chance d'être détectés par les réseaux de surveillance événementielle.

Les colverts sont des canards de surface granivores. Ces deux caractéristiques étaient également associées significativement au botulisme des anatidés. Le comportement de recherche de nourriture semblerait avoir un rôle dans cette association étant donné que les canards de surface ont été décrits comme étant plus à risque que les autres [Rocke et Friend, 1999 ; Vidal *et al.*, 2013]. En effet, les canards de surface ne plongent pas pour s'alimenter et sont donc limités aux zones les moins profondes, souvent près des berges, où les eaux sont probablement plus chaudes (plus favorables au botulisme) et où les cadavres éventuels sont plus accessibles.

La comparaison des anatidés issus de foyers de botulisme aux autres anatidés du réseau SAGIR a également mis en évidence une association significative dans notre échantillon entre le botulisme et le fait d'être en bon état physiologique. Cette association peut être liée au fait que les épisodes de botulisme surviennent majoritairement

en été quand les canards sont généralement en bon état physiologique, et au fait que, contrairement à d'autres maladies, le botulisme entraîne une mort rapide sans dégradation de celui-ci. Cependant, l'évaluation de l'état physiologique est opératoire dépendante et par conséquent subjective.

Dans un souci de conservation de la faune sauvage, il serait intéressant d'identifier les comportements à risque pour les espèces sauvages ainsi que d'identifier les espèces qui sont à l'origine de l'éclosion de la maladie, et celles qui l'entretiennent.

Parmi les volailles, les *Gallus gallus*, plus particulièrement les poulets de chair, étaient les plus souvent atteints par le botulisme, suivis par les dindes. Le faible nombre de cas dans les élevages de poules pondeuses avait déjà été constaté par Souillard *et al.* [2017], et pourrait être dû au système de logement en cages qui concernait 68 % des poules pondeuses en France en 2014 (note de conjoncture poules pondeuses ITAVI, 2015) [Souillard *et al.*, 2017]. Une étude menée par Hyun et Sakagushi en 1989 a en effet permis de mettre en évidence que le risque de botulisme était augmenté lorsque les volailles étaient sur litière, en raison de la coprophagie.

Il a été possible de décrire les analyses de laboratoire réalisées pour la recherche de botulisme, à partir des données du réseau SAGIR. La PCR donnait significativement moins de résultats positifs que la séroneutralisation sur souris (46 % PCR, 82 % séroneutralisation, test du khi-deux, $p = 2 \times 10^{-5}$). En effet, la méthode PCR classique sur contenus intestinaux, seule méthode PCR jusqu'en 2012, donnait un taux élevé de résultats négatifs et la toxine ne pouvait être identifiée alors que le test de létalité sur souris était positif [Le Maréchal *et al.*, 2016]. C'est pourquoi en 2012 une nouvelle méthode de PCR en temps réel, plus sensible, a été développée [Woudstra *et al.*, 2012] et validée dans le cadre du diagnostic chez les oiseaux [Le Maréchal *et al.*, 2017].

Pour de nombreux foyers issus des deux réseaux de surveillance, le type de la toxine n'a pas été communiqué alors que le botulisme a été confirmé par le laboratoire ; soit elle a été identifiée, mais n'a pas été renseignée par le laboratoire, soit les analyses n'ont pas permis de l'identifier. Ce dernier cas de figure peut être expliqué par le manque de sensibilité de la méthode PCR lors de l'analyse des contenus intestinaux. En effet, il arrive que le type de BoNT ne puisse être identifié par PCR sur contenus intestinaux malgré un test de létalité positif [Le Maréchal *et al.*, 2016].

L'analyse des foies par PCR en temps réel semble être une méthode plus sensible que celles utilisées jusqu'à présent et devrait permettre d'améliorer la confirmation des épisodes et l'identification des types toxiques [Le Maréchal *et al.*, 2016]. Parmi les foyers pour lesquels la toxine a été communiquée, la toxine « C » a été le plus souvent mise en évidence chez les volailles (62 % des foyers avec toxine identifiée) et était également très fréquente chez les oiseaux sauvages (43 % des foyers avec toxine identifiée). Ceci concorde avec les données existantes [Mitchell et Rosendal, 1987 ; Roche et Friend, 1999]. Le type de toxine « C ou D » a été mis en évidence dans 50 % des foyers de botulisme de l'avifaune sauvage pour lesquels la toxine a été identifiée. Cette dénomination est utilisée lorsqu'il est impossible de conclure sur le type de toxine en cause. En effet, les toxines « C », « D », « C/D » ou « D/C » sont assez proches et la neutralisation de ces toxines dans le test de létalité sur souris peut conduire à des réactions croisées en

particulier lorsque le titre en toxine est faible. De plus, la séroneutralisation ne permet pas de mettre en évidence les types mosaïques, qui tombent alors sous la catégorie « C ou D ». Ceci explique également le faible nombre de foyers rapportés dans nos données attribués à la toxine « C/D », pourtant actuellement souvent incriminée dans les foyers de botulisme aviaire en Europe [Woudstra *et al.*, 2012]. Effectivement, ce type de toxine mosaïque, n'était pas identifiable avant l'arrivée de nouvelles méthodes de caractérisation moléculaire permettant de les mettre en évidence [Lindberg *et al.*, 2010 ; Skarin *et al.*, 2010 ; Woudstra *et al.*, 2012 ; Le Maréchal *et al.*, 2016].

Bien que le botulisme soit à déclaration obligatoire et classé parmi les dangers sanitaires de première catégorie en France depuis 2013, il n'existe pas actuellement d'arrêté ministériel qui réglemente les mesures spécifiques de gestion et de lutte du botulisme aviaire.

V - CONCLUSION

Cet état des lieux du botulisme aviaire a permis d'obtenir une image descriptive des épisodes de botulisme en France de 2000 à 2013 chez les oiseaux sauvages et d'élevage. À première vue, étant donné la dynamique d'évolution inverse du nombre de foyers, il ne semble pas y avoir de lien entre les épisodes de botulisme des oiseaux sauvages et de ceux d'élevage. Cependant, afin de mettre en évidence un tel lien, il serait intéressant d'étudier les relations entre ces épisodes à une échelle spatiale et temporelle plus rapprochée. Étant donné les biais engendrés par les méthodes de surveillance, les résultats ne peuvent pas être

inférés à la population générale et il est impossible d'obtenir une prévalence. Toutefois, la diversité des données a permis de décrire le contexte épidémiologique des épisodes de botulisme. Le botulisme est une maladie majeure classée en France parmi les dangers sanitaires de première catégorie ; il est essentiel d'identifier les moyens permettant de maîtriser la maladie à la fois dans la faune sauvage et en élevage, en renforçant sa surveillance, notamment au niveau européen, par la mise en place d'un réseau d'épidémiologie européenne permettant d'obtenir des données standardisées, objectives et harmonisées.

BIBLIOGRAPHIE

Anniballi F., Fiore A., Lofstrom C., Skarin H., Auricchio B., Woudstra C., Bano L., Segerman B., Koene M., Baverud V., Hansen T., Fach P., Tevell Aberg A., Hedeland M., Olsson Engvall E., De Medici D. - Management of animal botulism outbreaks: from clinical suspicion to practical countermeasures to prevent or minimize outbreaks. *Biosecur Bioterror*, 2013, **11** Suppl 1, S191-199.

Anza I., Vidal D., Feliu J., Crespo E., Mateo R. - Differences in the Vulnerability of Waterbird Species to Botulism Outbreaks in Mediterranean Wetlands: an Assessment of Ecological and Physiological Factors. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2016, **82**, 3092-3099.

Arrêté du 29 juillet 2013 relatif à la définition des dangers sanitaires de première et deuxième

- catégorie pour les espèces animales. [https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000027831750&categorieLien=id], (consulté le 15 mai 2017).
- Blandford T.B., Roberts T.A. - An outbreak of botulism in broiler chickens. *Vet. Rec.*, 1970, **87**, 258-261.
- Clipléf D.J., Wobeser G. - Observations on waterfowl carcasses during a botulism epizootic. *J. Wildl Dis.*, 1993, **29**, 8-14.
- Decors A., Hars J., Faure E., Quintaine T., Chollet J.-Y., Rossi S. - Le réseau Sagir : un outil de vigilance vis-à-vis des agents pathogènes exotiques. *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation*, 2015, **66**, 35-39.
- Décret n°2006-178 du 17 février 2006 portant création d'une liste de maladies réputées contagieuses et modifiant le code rural. In : Ordre de service du ministère de l'agriculture et de la pêche du 6 mars 2006. [http://agriculture.gouv.fr/sites/minagri/files/documents/dgaln20068064z.pdf], (consulté le 15 mai 2017).
- Décret n°2006-179 du 17 février 2006 portant création d'une liste de maladies à déclaration obligatoire et modifiant le code rural. In : Ordre de service du ministère de l'agriculture et de la pêche du 6 mars 2006. [http://agriculture.gouv.fr/sites/minagri/files/documents/dgaln20068064z.pdf], (consulté le 15 mai 2017).
- Dohoo I., Martin W., Stryhn H. - Chapter 2: Sampling. In: *Veterinary Epidemiologic Research*. Dohoo, I., Martin, W. and Stryhn, H. (Eds.), Charlottetown, Prince Edward Island, Canada, 2003, 27-52.
- Données Agreste. Agreste, La statistique, l'évaluation et la prospective agricole [en ligne], [http://agreste.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/Gar14p078-091.pdf], (consulté le 15 mai 2017).
- Hatheway C.L. - Clostridium botulinum and other clostridia that produce botulinum neurotoxin In: *Clostridium botulinum: Ecology and Control in Foods*. Hauschild, A. H. W. and Dodds, K. L. (Eds.), Marcel Dekker, New York, 1993, 3-20.
- Hyun S.H., Sakaguchi G. - Implication of coprophagy in pathogenesis of chicken botulism. *Nihon Juigaku Zasshi*, 1989, **51**, 582-586.
- Lamarque F., Hatier C., Artois M., Berny P., Diedler C. - Le réseau Sagir, Réseau national de suivi sanitaire de la faune sauvage française. *Epidémiol. et santé anim.*, 2000, **37**, 21-30.
- Lan Chun C., Kahn C.I., Borchert A.J., Byappanahalli M.N., Whitman R.L., Peller J., Pier C., Lin G., Johnson E.A., Sadowsky M.J. - Prevalence of toxin-producing Clostridium botulinum associated with the macroalga Cladophora in three Great Lakes: growth and management. *Sci. Total Environ.*, 2015, **511**, 523-529.
- Le Maréchal C., Ballan V., Rouxel S., Bayon-Auboyer M.H., Baudouard M.A., Morvan H., Houard E., Poezevara T., Souillard R., Woudstra C., Le Bouquin S., Fach P., Chemaly M. - Livers provide a reliable matrix for real-time PCR confirmation of avian botulism. *Anaerobe*, 2016, **38**, 7-13.
- Le Maréchal C., Rouxel S., Ballan V., Houard E., Poezevara T., Bayon-Auboyer M.H., Souillard R., Morvan H., Baudouard M.A., Woudstra C., Mazuet C., Le Bouquin S., Fach P., Popoff M., Chemaly M. - Development and Validation of a New Reliable Method for the Diagnosis of Avian Botulism. *PLoS One*, 2017, **12**, e0169640.
- Lindberg A., Skarin H., Knutsson R., Blomqvist G., Baverud V. - Real-time PCR for Clostridium botulinum type C neurotoxin (BoNTC) gene, also covering a chimeric C/D sequence--application on outbreaks of botulism in poultry. *Vet. Microbiol.*, 2010, **146**, 118-123.
- Mitchell W.R., Rosendal S. - Type C botulism: the agent, host susceptibility, and predisposing factors. In: *Avian botulism: an international perspective*. Eklund, W. and Dowell, V. R. J. (Eds.), Springfield, IL, 1987, 55-71.
- Moriishi K., Koura M., Abe N., Fujii N., Fujinaga Y., Inoue K., Ogumad K. - Mosaic structures of neurotoxins produced from Clostridium botulinum types C and D organisms. *Biophys. Acta*, 1996, **1307**(2), 123-126.
- Note de conjoncture poules pondeuses. ITAVI, Institut Technique de l'AViculture [en ligne], [http://www.itavi.asso.fr/content/note-de-conjoncture-poules-pondeuses], (consulté le 18 octobre 2017).
- Okamoto K., Adachi M., Sato K.I., Chuma T. - Epidemiological factors in chicken botulism. *Journal of the Japanese Veterinary Medical Association*, 1999, **52**, 168-173.
- Rocke T.E., Friend M. - Avian botulism. In: *Field manual of wildlife disease. General procedures and diseases of birds*. Friend, M. and Franson, J. D. (Eds.), US Geological Survey (USGS) National

- Wildlife Health Center, Washington, DC, 1999, 271-281.
- Rocke T.E. - The global importance of avian botulism. In: Waterbirds around the world. Boere, G. C., Galbraith, C. A. and Stroud, D. A. (Eds.), Edinburgh, United Kingdom, 2006, 422-426.
- Rocke T.E., Bollinger T.K. - Avian botulism. In: Infectious diseases of wild birds. Thomas, N. J., B, H. D. and T, A. C. (Eds.), Wiley-Blackwell, Ames, IA, 2007, 377-416.
- Shayegani M., Stone W.B., Hannett G.E. - An outbreak of botulism in waterfowl and fly larvae in New York State. *J. Wildl. Dis.*, 1984, **20**, 86-89.
- Skarin H., Lindberg A., Blomqvist G., Aspan A., Baverud V. - Molecular characterization and comparison of *Clostridium botulinum* type C avian strains. *Avian Pathol.*, 2010, **39**, 511-518.
- Skarin H., Tevell Aberg A., Woudstra C., Hansen T., Lofstrom C., Koene M., Bano L., Hedeland M., Anniballi F., De Medici D., Olsson Engvall E. - The workshop on animal botulism in Europe. *Biosecur Bioterror*, 2013a, **11** Suppl 1, S183-190.
- Skarin H., Blomqvist G., Baverud V. - Botulism. In: Diseases of poultry 13th edition. Swayne, D. E., Glisson, J. R., McDougald, L. R., Nolan, L. K., Suarez, D. L. and Nair, V. (Eds.), Blackwell Publishing Ltd Ames IA, 2013b, 953-957.
- Skarin H., Lindgren Y., Jansson D.S. - Investigations into an Outbreak of Botulism Caused by *Clostridium botulinum* Type C/D in Laying Hens. *Avian Dis.*, 2015, **59**, 335-340.
- Soos C., Wobeser G. - Identification of primary substrate in the initiation of avian botulism outbreaks. *J. Wildl. Manage.*, 2006, **70**, 43-53.
- Souillard R., Le Maréchal C., Ballan V., Rouxel S., Leon D., Balaine L., Poezevara T., Houard E., Robineau B., Robinault C., Chemaly M., Le Bouquin S. - Investigation of a type C/D botulism outbreak in free-range laying hens in France. *Avian. Pathol.*, 2017, **46**, 195-201.
- Stutzenbaker C.D., Brown K., Lopries D. - Special report: an assessment of the accuracy of documenting waterfowl die-offs in a Texas coastal marsh. In: Lead Poisoning in Wild Waterfowl, a workshop. Feierabend, J. S. and Russel, A. B. (Eds.), National Wildlife Federation, Washington, D.C., USA, 1986, 88-95.
- Takeda M., Tsukamoto K., Kohda T., Matsui M., Mukamoto M., Kozaki S. - Characterization of the neurotoxin produced by isolates associated with avian botulism. *Avian Dis.*, 2005, **49**(3), 376-81.
- Vidal D., Anza I., Taggart M.A., Perez-Ramirez E., Crespo E., Hofle U., Mateo R. - Environmental factors influencing the prevalence of a *Clostridium botulinum* type C/D mosaic strain in nonpermanent Mediterranean wetlands. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2013, **79**, 4264-4271.
- Wobeser G., Marsden S., MacFarlane R.J. - Occurrence of toxigenic *Clostridium botulinum* type C in the soil of wetlands in Saskatchewan. *J. Wildl. Dis.*, 1987, **23**, 67-76.
- Woo G.H., Kim H.Y., Bae Y.C., Jean Y.H., Yoon S.S., Bak E.J., Hwang E.K., Joo Y.S. - Outbreak of botulism (*Clostridium botulinum* type C) in wild waterfowl: Seoul, Korea. *J. Wildl. Dis.*, 2010, **46**, 951-955.
- Woudstra C., Skarin H., Anniballi F., Fencia L., Bano L., Drigo I., Koene M., Bayon-Auboyer M.H., Buffereau J.P., De Medici D., Fach P. - Neurotoxin gene profiling of *Clostridium botulinum* types C and D native to different countries within Europe. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2012, **78**, 3120-3127.



Remerciements

Cette étude a été réalisée grâce aux acteurs des réseaux d'épidémiologie, que nous remercions :

- Pour le réseau SAGIR : Les agents des fédérations départementales des chasseurs, les techniciens de l'environnement de l'ONCFS et tous les laboratoires départementaux,
- Pour le réseau RNOEA : Les correspondants laboratoires vétérinaires et vétérinaires du terrain.

Nous tenons également à remercier Madame Eva Faure de la Fédération nationale des chasseurs, Monsieur Matthieu Guillemain de l'ONCFS, Madame Adeline Huneau de l'Anses, Monsieur Michel Popoff de l'Institut Pasteur et Madame Marie Eve Terrier de la DDDP21