

Extracteur à billes magnétiques, utilisé pour le traitement des prélèvements en lien avec une suspicion de botulisme (source : Laboceia).

En direct du labo

Botulisme : suspecter rapidement, prélever "à point nommé"

Le botulisme animal est une affection réglementée (danger sanitaire de catégorie 1 chez « toutes les espèces sensibles ») en France. L'entrée en vigueur dans l'UE27 de la Loi de Santé Animale ce 21 avril 2021 ne modifie pas, pour le moment, cette disposition. Que ce soit chez les animaux ou chez l'humain, la maladie n'est pas transmissible entre individus. « Les mesures de gestion actuelles lors de cas/foyers de botulisme chez les espèces de rente prennent en compte à la fois le risque de santé publique et celui de santé animale », détaille la D^{re} Silvia Turci, responsable bactériologie à Laboceia-Ploufragan. Le botulisme humain est aussi une maladie à déclaration obligatoire. En France, il y a de 10 à 20 cas humains de botulisme par an, tous d'origine alimentaire (68 cas entre 2013 et 2016)*.

Toxines mosaïques

Si toutes les espèces de mammifères, d'oiseaux et poissons sont a priori sensibles au botulisme (il y a 7 sérotypes de la toxine, de A à G, qui a un neurotropisme exclusif), les bovins et les volailles présentent une réceptivité élevée, alors que le porc est considéré plus résistant ; de rares cas ont été décrits chez les équidés (type B, aux USA). Chez les humains, les types de botulisme sont : A, B, E et F. Chez les ruminants et les volailles, les sous-types de toxines les plus fréquents

sont les C, D et les toxines dites "mosaïques" (leur gène comprend des parties plus ou moins importantes de l'un ou l'autre des sous-types : toxines C/D ou D/C).

Suspicion précoce

Le réservoir de *C. botulinum* est l'environnement : sol, poussière, lisiers, etc. Les cadavres constituent également un substrat favorable à la croissance de *C. botulinum* et à la production de toxine. Chez les bovins comme chez les volailles, le botulisme se manifeste par une mortalité brutale, bien que les volailles puissent présenter une attitude "des ailes tombantes" au préalable. La toxine étant neuroparalysante, les signes d'intoxication sont peu évocateurs en dehors d'une atteinte neurologique d'un groupe d'animaux. Chez les bovins, le contact avec du lisier de volailles ou des pâtures épandues avec celui-ci est un élément de suspicion important. Aussi, « lorsque des éléments cliniques et épidémiologiques suffisants existent pour suspecter le botulisme, il convient d'en alerter la DDPP du département dès que possible. C'est particulièrement important en filière bovine laitière au regard des rappels à exercer en cas de confirmation : plus le rappel est tardif et plus les volumes ainsi que la quantité de produits à rappeler augmentent ». En clair, il convient de ne pas écarter trop hâtivement une suspicion de botulisme.

Que prélever ?

Le détail des prélèvements à réaliser sur les bovins comme sur les volailles en cas de suspicion est fourni dans le tableau ci-dessous ; ils sont coordonnés par la DDPP. En cas de suspicion faible, ils peuvent être réalisés à titre conservatoire (congélation). Les matrices/organes à prélever ont été déterminés comme étant les plus à même de détecter le gène de la toxine botulique par PCR (qualitative : réponse par présence/absence). Pour les bovins, il est recommandé de prélever la totalité des animaux atteints et/ou décédés car il y a parfois besoin d'analyser plusieurs échantillons avant d'obtenir confirmation de la présence du/des gène/s (bont). Un délai minimum de 48 à 72 h ouvrables, à réception des échantillons, est nécessaire à la mise en œuvre de ces analyses. En bovins comme en aviaire, « le stockage au congélateur est impératif dès que possible après la réalisation du prélèvement. En effet, il améliore la capacité à détecter le gène cible de la PCR. D'ailleurs, si les prélèvements arrivent au

Un chiffre,
une analyse

370 000

C'est le nombre d'analyses RT-PCR Covid-19 réalisées en sous-traitance des laboratoires de biologie médicale par les 3 sites de Laboceia depuis le mois de mai 2020 et à la date du 1^{er} mai 2021. Ces analyses comprennent les RT-PCR spécifiques des trois variants co-circulant activement en France depuis la fin de 2020. •

Suspicion de	Prélèvements	Mélange d'échantillons de plusieurs animaux	Stockage
Botulisme bovin	Contenu du rumen (50 g minimum) Foie (50 g minimum) Fèces (5 g minimum)	Prélever tous les animaux atteints ou décédés (prélèvements en individuel)	Impérativement au congélateur, dès que possible après le prélèvement.
Botulisme aviaire	Sur 4 oiseaux, malades ou morts : - foies, - contenus intestinaux (les mettre dans un flacon de 15 g, rempli à ras-bord), ou anses intestinales ligaturées.		Volailles seulement : stockage possible au réfrigérateur si <48 h

Prélèvements et mode de conservation recommandés en cas de suspicion de botulisme bovin ou aviaire.

laboratoire non congelés, une phase de congélation est appliquée avant mise en analyse des échantillons, pour la même raison », souligne la D^{re} Turci. En revanche, « les échantillons d'aliment et d'environnement ne sont pas traités à Labocea ; ils sont réacheminés au Laboratoire national de référence (LNR) à l'Anses de Ploufragan-Plouzané-Niort

sous la responsabilité de Caroline Le Maréchal ». La recherche de toxines est, elle, réalisée par le Centre national de référence (Institut Pasteur de Paris). En aviculture, lors d'un diagnostic différentiel sur une suspicion de botulisme/influenza aviaire retenue par la DDPP, « il faut le préciser sur la feuille d'information : les analyses de botulisme seront

alors mises en attente. Elles ne seront faites qu'après réception du résultat négatif pour l'influenza ». Dans tous les cas, les analyses PCR seront réalisées à Labocea-Ploufragan et au LNR, ce qui permet d'optimiser les chances de détection du génome de *C. botulinum*.

* Mazuet C. et coll. BEH, 2018, n° 3, p. 46-54.

Ça bouge à LABOCEA

Nouveaux outils pour le typage des *Mannheimia haemolytica* des ruminants

« Dans l'offre "santé respiratoire bovine" de Labocea, renouvelée à l'automne dernier, figurent les typages des *Mannheimia haemolytica*. Ces propositions sont le fruit de 12 à 18 mois de développement méthodologique, reposant sur la bibliographie d'une part, et la validation d'outils en interne » explique le D^r Guillaume Lequeux, chef du service d'anatomopathologie et microbiologie vétérinaire à Labocea-Fougères.

En premier lieu, la bibliographie confirme, sur ces dernières années, que deux groupes génétiques (génotypes) de *M. haemolytica* peuvent être distingués :
- le génotype 1 est surtout composé de souches identifiées dans des cas de portage sain, dans l'appareil respiratoire supérieur des bovins. Ce sont les souches qui sont classiquement isolées à partir d'un écouvillon nasopharyngé réalisé sur des bovins en l'absence de signes cliniques respiratoires ;
- et le génotype 2, qui correspond surtout à des isolats à partir des voies aériennes profondes de bovins à maladie respiratoire bovine (MRB). Ce génotype est constitué de souches portant significativement plus souvent que le précédent des gènes de résistance aux antibiotiques.

« Nous avons en grande partie confirmé ces descriptions sur des souches de la collection de Labocea : c'est une règle générale, bien que non absolue », poursuit Guillaume Lequeux. Or l'analyse Maldi-ToF, utilisée pour l'identification des pasteurelles, fournit aussi deux spectres différents selon que la bactérie est de génotype 1 ou 2. « Cette information est donc disponible dès l'étape d'identification : nous avons choisi de la mentionner dans le compte-rendu d'analyse, à chaque fois que c'est possible ».

En second lieu, et sans aucune corrélation avec les génotypes, une PCR multiplex a été mise en place qui permet de sérotyper les souches obtenues en bactériologie : bien que 13 sérotypes soient décrits, trois sont dominants. La PCR va donc distinguer les sérotypes A1, A6 (tous deux retrouvés dans un contexte de MRB) et A2 (plutôt circonscrit au portage dans les voies respiratoires supérieures). La littérature indique que le développement d'une MRB correspond à une transition d'une population majoritairement constituée de *M. haemolytica* A2 vers des populations majoritaires de souches A1 ou A6, en localisation plus profonde. Les facteurs de risque sont connus, mais pas le mécanisme d'une telle transition.

Depuis plusieurs années, le sérotype A6 est de plus en plus fréquemment isolé, bien que le sérotype A1 reste majoritaire chez les bovins. Outre l'intérêt épidémiologique et informatif sur la virulence de la souche isolée, le sérotypage peut permettre d'explorer les cas d'échecs vaccinaux : les vaccins du commerce dirigés contre *M. haemolytica* contiennent des antigènes de souches A1 et la protection croisée contre le sérotype A6 est le plus souvent obtenue, mais n'est pas nécessairement systématique et complète. À noter que, chez les ovins, c'est le sérotype A2 qui est virulent.

En troisième lieu, « l'offre propose aussi la recherche du gène codant pour la leucotoxine » de *M. haemolytica*. C'est « son principal facteur de virulence, celui qui est principalement à l'origine des dommages tissulaires dans le parenchyme pulmonaire ». L'analyse peut être faite en même temps que les PCR de sérotypage, ou séparément. « L'intérêt de cette approche est que, sur des cas de MRB présentant des lésions évocatrices à l'autopsie, l'identification de *M. haemolytica* porteuse du gène de la leucotoxine permet avec une quasi-certitude de lui imputer l'origine de l'épisode ».

Pour en savoir plus : voir l'article sur les pasteurelles des bovins publié aux Journées nationales des groupements techniques vétérinaires de 2020, par les D^s Lequeux et Cesbron, disponible sur le site internet de Labocea, à l'adresse <https://www.labocea.fr/pasteurelloses-bovins/>

En bref



• **Le D^{re} Mouna Abed-Zahar** a rejoint l'équipe de Labocea-Ploufragan comme cheffe du service Immunologie-Virologie-PCR, depuis le mois de mars 2021. Vétérinaire diplômée de l'école vétérinaire d'Alger, où elle a été maître de conférence, la D^{re} Abed-Zahar est une ancienne interne en pathologie du bétail de l'ENV d'Alfort et spécialisée en médecine aviaire. Elle dispose aussi d'un PhD en virologie aviaire, sur le virus de la maladie de Gumboro, sur des travaux effectués à l'Anses de Ploufragan-Plouzané-Niort.

• **Surfaces à propriétés biocides** : le service de virologie de Labocea-Ploufragan vient de valider le test d'évaluation de l'activité virucide des surfaces, décrit dans la norme ISO21702, sur le virus influenza A H1N1 (porcin), à la demande d'un de ses clients. Il n'y a pas encore de norme Afnor sur cet aspect (elle est en cours de préparation). La norme ISO prévoit le recours soit à une souche d'influenza A H3N2 humaine (grippe de Hong Kong), soit à une souche de calicivirus félin (modèle des virus non enveloppés), pour un temps de contact pouvant aller jusqu'à 24 h, mais ne fixe pas de seuil d'activité en termes de réduction de titre viral. Les essais, réalisés dans le laboratoire P3 de Ploufragan, ont permis de mesurer l'activité de plusieurs types de surfaces, avec succès.

• **Cétacés** : Labocea-Ploufragan a signé début 2021 une convention avec l'Observatoire Pélagis (La Rochelle Université et CNRS). Celui-ci rassemble des programmes d'observation et d'expertise sur la conservation des espèces de mammifères et oiseaux marins. Il assure également la coordination scientifique et administrative, ainsi que l'animation du Réseau national échouage (qui concerne les mammifères marins). Les missions principales à réaliser dans le cadre de cette convention sont la constitution d'un réseau de vétérinaires pour effectuer une centaine d'autopsies de mammifères marins par an, la finalisation d'un protocole unique pour ces autopsies, la validation des examens nécropsiques et l'appui à l'équipe échouage.

LABOCEA, Conseil, Expertise et Analyse en Bretagne - ZOOPOLE, 7 rue du sabot, 22440 PLOUFRAGAN

Site de Brest (29) : 02 98 34 11 00, site de Combourg (35) : 02 99 73 02 29, site de Fougères (35) : 02 99 94 74 10
site de Ploufragan (22) : 02 96 01 37 22, site de Quimper (29) : 02 98 10 28 88.

Contact santé animale : sante.animale@labocea.fr

