

CENTRE NATIONAL DE RÉFÉRENCE BACTÉRIES ANAÉROBIES ET BOTULISME

Bilan des activités 2017-2021



Laboratoire « Pathogénèse des bactéries anaérobies »



**Service de Microbiologie de l'environnement
(Hôpital St Antoine, Paris)**

Christelle MAZUET
Frédéric BARBUT

TABLE DES MATIERES

1. BILAN DES ACTIVITES SCIENTIFIQUES ET TECHNIQUES.....	6
1.1. Bilan des activités scientifiques et techniques du CNR Coordonateur	7
1.1.1. Activités d'expertise microbiologique	7
1.1.1.1. Infections à bactéries anaérobies	7
1.1.1.1.1. Souches d'origine humaine.....	8
1.1.1.1.2. Souches d'origine vétérinaire	10
1.1.1.1.3. Souches d'autres origines (alimentaire et « industrielle »)	11
1.1.1.2. Surveillance de la résistance des bactéries anaérobies aux anti-infectieux (hormis <i>Clostridium difficile</i> *).....	11
1.1.1.3. Diagnostic du botulisme.....	16
1.1.1.3.1. Botulisme humain	16
1.1.1.3.2. Botulisme agro-alimentaire et environnemental.....	22
1.1.1.3.3. Botulisme animal	23
1.1.2. Conseil aux professionnels ou aux autorités de sante.....	24
1.1.3. Contribution à la surveillance épidémiologique	25
1.1.4. Contribution à l'alerte	26
2. LISTE DES PUBLICATIONS	29
2.1. Publications nationales	29
2.2. Publications internationales	29
2.3. Chapitres de livre	33
2.4. Congrès, workshops, conférences sur invitations.....	33
2.5. Coopération avec les laboratoires de santé animale, hygiène alimentaire, environnementaux.....	34
3. BILAN DES ACTIVITES SCIENTIFIQUES ET TECHNIQUES DU LABORATOIRE ASSOCIE <i>CLOSTRIDIODES DIFFICILE</i>.....	38
3.1. Activités au titre de l'expertise microbiologique.....	38
3.1.1. Evolution des techniques 2017-2021	38
Techniques développées	38
Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse.....	39
3.1.2. Activités d'expertise sur <i>C. difficile</i>	39
3.1.3. Activités de recherche du laboratoire associé.....	40
3.2. Conseil aux professionnels ou aux autorités de santé.....	45
3.2.1. Enseignements réalisés	45
3.2.2. Formations aux professionnels de santé	45
3.2.3. Stagiaires accueillis	49
3.2.4. Liste des guides élaborés	50
3.2.5. Diffusions aux professionnels de santé	51
3.2.6. Activités d'information, de formation et de conseil.....	52
3.2.7. Activités d'expertise	52

3.3.	Contribution à la surveillance épidémiologique	53
3.3.1.	Surveillance des infections à <i>C. difficile</i>	53
	Réseau de partenaires	53
	Définition de l'échantillon de souches isolées	53
	Analyse de la distribution des souches de <i>C. difficile</i> en fonction des critères pertinents et analyse des tendances.....	54
3.3.2.	Surveillance de la résistance de <i>C. difficile</i> aux anti-infectieux	59
3.3.3.	Participation aux réseaux de surveillance	60
	• Contribution à la surveillance nationale en interface avec Santé Publique France... ..	60
	• Contribution aux réseaux de surveillance internationaux en particulier européens.	60
	• Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance réalisée	61
3.3.4.	Contribution à l'alerte	62
4.	LISTE DES PUBLICATIONS	65
4.1.	Publications nationales	65
	COUTURIER J, RABATE M, NESA D, ADAM M, PRAT L, JOLIVET S, BARBUT F.....	65
	Évaluation de la dissémination des bactéries à partir des toilettes : résultats d'une étude expérimentale.	65
	Hygiènes 2022, 1, 1-7.....	65
	BARBUT F., ECKERT C., LALANDE V., LE NEINDRE K., COUTURIER J.....	65
	La revue du praticien, 2022, soumis	65
4.2.	Publications internationales	65
4.3.	Communications nationales.....	69
4.4.	Communications internationales	72
4.5.	Conférences sur invitations.....	75

LIVRE I

CENTRE NATIONAL DE RÉFÉRENCE DES BACTÉRIES ANAÉROBIES ET BOTULISME



**BILAN DES ACTIVITÉS
SCIENTIFIQUES ET TECHNIQUES
2017-2021**

CNR COORDONATEUR

1. BILAN DES ACTIVITES SCIENTIFIQUES ET TECHNIQUES

Le CNR coordonnateur Bactéries anaérobies et Botulisme participe à la surveillance du botulisme humain en France depuis 1972. Pour la période 2017-2021 (en moyenne 200 échantillons annuels analysés pour le botulisme humain, environ 600 échantillons annuels au total y compris contrôles d'aliments et prélèvements vétérinaires), 32 foyers (44 cas) de botulisme humain ont été identifiés.

Le botulisme humain en France est essentiellement un botulisme d'origine alimentaire (23 foyers, 35 cas), la forme de botulisme infantile est plus rare (9 foyers, 9 cas). Le type B reste le botulisme le plus fréquemment rencontré (23 foyers, 29 cas) et le type A (7 foyers, 9 cas) à l'origine des formes les plus sévères qui nécessitent le plus souvent une hospitalisation avec assistance respiratoire. Un foyer (2 cas graves) de botulisme alimentaire de type E a été identifié en 2021. En 2018, un foyer de botulisme alimentaire (4 cas) confirmé mais non typé faute de prélèvements biologiques suffisants. Aucun décès par botulisme a été enregistré sur la période 2017-2021 (les précédents étaient un en 2015 et un en 2010).

Sur la période 2017-2021, les aliments responsables ont pu être analysés et confirmés biologiquement dans 7 foyers (ie 32% des foyers de botulisme humain alimentaire) et identifiés ou fortement suspectés pour 12 autres foyers. De façon remarquable, aucun foyer n'est lié à la consommation de jambon de préparation familiale ou artisanale, historiquement à l'origine de nombreux foyers de botulisme de type B4 en France (12 sur la période 2011-2016 par exemple).

Les faits marquants concernant le botulisme humain au cours de cette période sont :

- Une soupe de légumes industrielle à l'origine d'un cas très grave de botulisme de type A5 en 2019, sous-type rarement décrit dans le monde, précédemment identifié en France en 2011 dans une boîte de pâtes à la carbonara également d'origine industrielle.

- Egalement pour la seconde fois et à 12 ans d'intervalle, un foyer de type E12 impliquant gravement 2 jeunes adultes. De façon remarquable, ce sous type extrêmement rare a été décrit uniquement en France et précisément à Strasbourg à deux reprises. L'aliment à l'origine du premier foyer en 2009 était un jambon fumé artisanal, un hachis Parmentier de canard, également artisanal et local, est responsable du second foyer identifié en 2021.

- Auparavant extrêmement rarissime (1 observation en 1991 puis 7 cas entre 1991 et 2009) le botulisme infantile est plus fréquemment déclaré en France ces dernières années : 17 cas ont été identifiés entre 2010 et 2021 dont 9 dans la période 2017-2021.

- Des cas de botulisme iatrogène ont été fortement suspectés cliniquement à 4 reprises à la suite d'injections de toxine botulique à visée thérapeutique ou esthétique.

Le botulisme animal fait l'objet d'identification ou de typage en complément de premières analyses réalisées par les laboratoires vétérinaires ou le LNR. Le botulisme de type C, D, ou mosaïque C/D ou D/C sévit notamment dans les élevages de volailles et dans certains élevages de bovins ainsi que dans la faune sauvage. Le botulisme reste une situation préoccupante en élevage bovin et volaille avec de nombreux foyers chaque année et un risque de santé publique.

Dans la période 2017-2021, une moyenne de 165 souches ont été reçues annuellement au CNR (123 en 2021) pour identification et/ou antibiogramme. Les souches qui nous sont adressées sont des souches qui n'ont pas été identifiées par les laboratoires hospitaliers ou médicaux par les méthodes standards y compris le MALDI-TOF, ou qui font l'objet d'une demande spécifique de typage ou de détermination d'antibiorésistance. De nombreuses souches correspondent à des espèces et/ou genres nouveaux et sont identifiées principalement par leurs caractéristiques

génétiques (séquençage des gènes ARNr et de plus en plus séquençage du génome complet suivie d'une analyse bio-informatique) tels que *Bacteroides cellulosilyticus*, *Bacteroides coagulans*, *Bacteroides xylanisolvens*, *Clostridium bartlettii*, « *Desulfovibrio fairfieldensis* », *Fastidiosipila sanguinis*, *Robinsoniella peoriensis*, *Victivallis* sp...). Les infections à bactéries anaérobies se manifestent généralement sous forme de cas isolés. Certaines bactéries anaérobies sont bien connues pour leur pouvoir pathogène et peuvent être à l'origine de cas particulièrement graves, mais d'autres qui sont responsables de formes sévères, sont tout à fait inhabituelles. Ainsi, à titre d'exemples: entérocolite ulcéro-nécrosante à *Clostridium neonatale*, pseudo-arthrose à *Tannerella forsythia*, septicémie fatale à *Victivallis* sp., plusieurs décès suite à un choc septique avec hémolyse intravasculaire massive à *C. perfringens*, anémie hémolytique avec insuffisance rénale à *Clostridium haemolyticum*, choc toxique fatal post-partum à *C. sordellii*, discite lombaire à *C. perfringens*, adénite cervicale suppurée à *Clostridium bartlettii*, gangrène de Fournier à *Bacteroides coagulans*, hémoculture à *Desulfovibrio intestinalis*, *Flavonifractor plautii*, ainsi qu'à *Oscillospiraceae* sp. ou *Olsenella profusa*.

Bien que les bactéries anaérobies restent en général sensibles aux traitements antibiotiques, le suivi de l'évolution de la résistance effectué par le CNR confirme que certaines espèces (particulièrement les *Bacteroides* du groupe *fragilis*) sont de plus en plus résistantes notamment aux bêta-lactamines incluant les carbapénèmes.

1.1. Bilan des activités scientifiques et techniques du CNR

Coordonateur

1.1.1. ACTIVITES D'EXPERTISE MICROBIOLOGIQUE

1.1.1.1. Infections à bactéries anaérobies

Pour la période 2017-2021, le CNR a reçu 1036 prélèvements et analysé 836 souches de bactéries anaérobies.

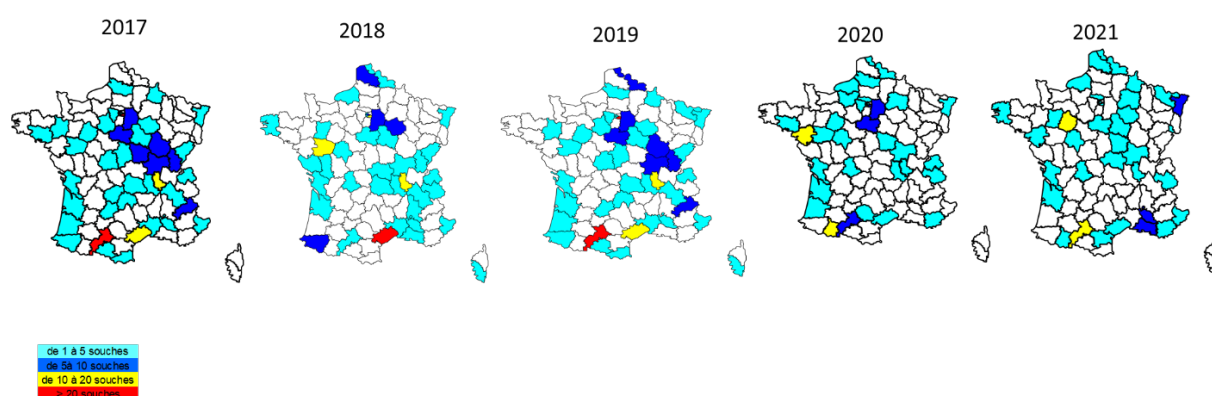
Origine	Nombre de souches analysées (Nombre de prélèvements reçus)					BILAN 2017-2021
	2017	2018	2019	2020	2021	
Humaine	205 (221)	128 (159)	141 (217)	114 (124)	92 (107)	680 (828)
Vétérinaire	18	4 (33)	10 (13)	13 (14)	18 (23)	63 (101)
Alimentaire	14	1 (14)	25	12	6 (7)	58 (72)
Environnement	4	0	1	1	3	9
Autres	4	11	5	2	4	26
Total	245 (261)	144 (217)	182 (261)	142 (153)	123 (144)	836 (1036)

En 2018 et 2019, le CNR a été très sollicité en première intention pour orienter, identifier et isoler des germes anaérobies à partir de **prélèvements primaires** humains, vétérinaires ou alimentaires dans le cadre de TIAC, d'épizootie ou de suspicion de tétanos : 73 prélèvements de ce type reçus en 2018 (vs 16 en 2017) et 76 en 2019. Fort probablement

du fait de l'épidémie de Covid, le CNR a cependant été très peu sollicité en 2020 en première intention 10 prélèvements de ce type reçus en janvier et février 2020 et un peu plus en 2021 avec 21 prélèvements. Le CNR a su s'adapter pour répondre au mieux à la demande des cliniciens, vétérinaires et autorités de santé en termes de diagnostic biologique des pathologies à bactéries anaérobies strictes ou facultatives.

1.1.1.1.1. Souches d'origine humaine

L'origine géographique des demandes d'identification de souches d'origine humaine parvenues au CNR sur les années 2017-2021 est variable d'une année sur l'autre et couvre globalement l'ensemble du territoire :



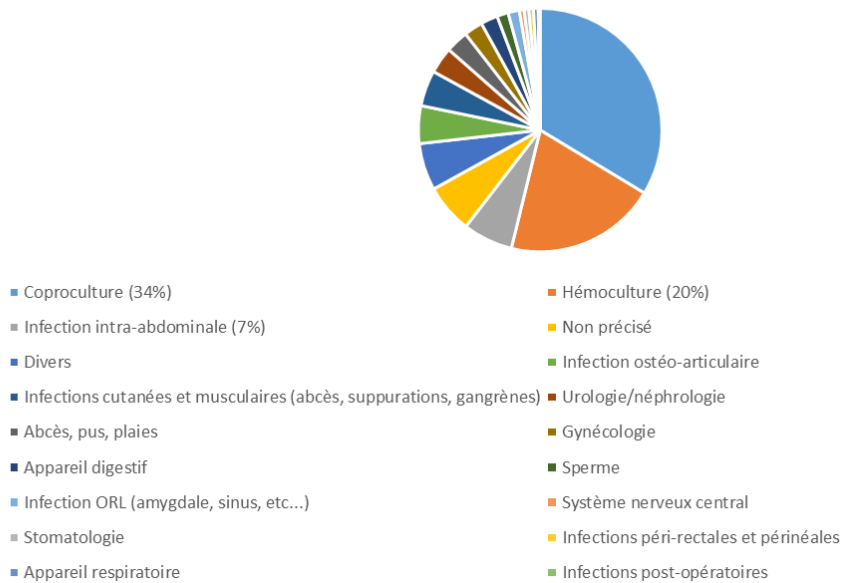
Le CNR reçoit également des souches des départements et des territoires d'outre-mer (9 en 2017, 3 en 2018, 6 en 2019, 12 en 2020 et 3 en 2021).

Les caractéristiques des patients pour lesquels le CNR a reçu une souche ou un prélèvement biologique sont décrits dans le tableau suivant :

	2017			2018			2019			2020			2021		
	Hommes	Femmes	Total	Hommes	Femmes	Total	Hommes	Femmes	Total	Hommes	Femmes	Total	Hommes	Femmes	Total
N	111	110	221	88	50	138*	77	140	217	59	65	124	58	49	107
Sex ratio H/F			1			0,64			0,55			0,91			1,2

La distribution selon les sites d'infections entre 2017 et 2021 des souches de bactéries anaérobies est présentée dans le graphe ci-dessous :

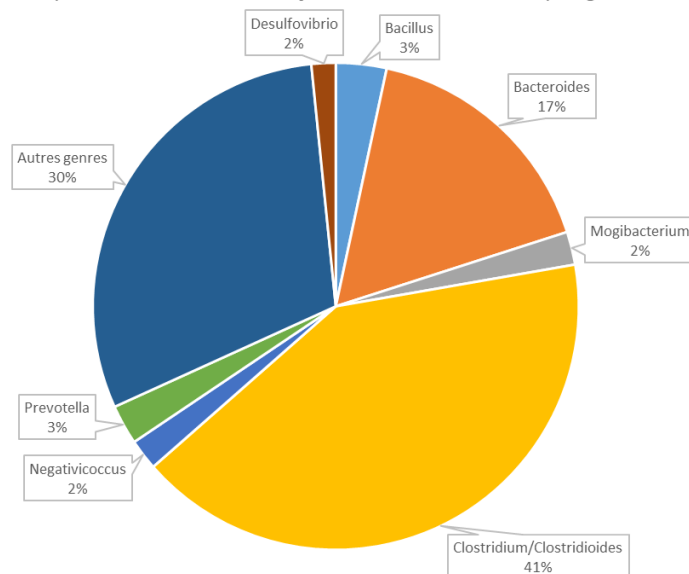
Distribution selon les sites d'infections entre 2017-2021



La majorité des souches pour lesquelles nous avons des renseignements cliniques provient principalement de coproculture (34%), d'hémoculture (20%), d'infections intra-abdominale (7%), d'infections cutanées et musculaires ou d'urologie/néphrologie. Le reste des souches provient de sites extrêmement variés: stomatologie, appareil respiratoire, sperme, système nerveux central, etc.

Le genre *Clostridium* / *Clostridioides* est le genre le plus représenté parmi les souches envoyées ou isolées par le CNR entre 2017 et 2021. La figure suivante montre la répartition des principaux genres, la catégorie « Autres genres » comprend tous les genres pour lesquels nous avons reçus moins de 2% de souches et correspond à 71 genres différents.

Répartition des souches reçues entre 2017 et 2021 par genre



1.1.1.1.2. Souches d'origine vétérinaire

Sur la période 2017-2021, le CNR a reçu ou isolé 96 souches. Le genre *Clostridium* est de nouveau le genre le plus représenté parmi les souches envoyées et/ou isolées par le CNR (88.5%).

Les différentes espèces retrouvées sont indiquées dans le tableau suivant:

Espèces	nombre de souches
<i>Bacteroides fragilis</i>	2
<i>Bacteroides pyogenes</i>	2
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	1
<i>Clostridium botulinum</i>	27
<i>Clostridium haemolyticum</i>	5
<i>Clostridium perfringens</i>	14
<i>Clostridium septicum</i>	17
<i>Clostridium chauvoei</i>	7
<i>Clostridium novyi</i>	2
<i>Clostridium perfringens</i>	13
<i>Clostridium sporogenes</i>	2
<i>Fusobacterium necrophorum</i> subsp. <i>necrophorum</i>	2
<i>Fusobacterium</i> sp.	2
<i>Paragasterthella hongkongensis</i>	1
<i>Vagococcus lutrae</i>	1

Sur la période 2017-2021, l'année 2018 a été marquée par la survenue inhabituelle de mortalité de cerfs survenue dans au moins quatre départements (Ariège, Hautes-Pyrénées, Savoie, Marne), rapportée par le réseau SAGIR. Le CNR a été sollicité pour investiguer cette épizootie de cervidés. Il s'agit d'un épisode monospécifique, multi-âge, très agrégé dans l'espace, agrégé dans le temps (depuis décembre 2017). Concomitamment, des cas similaires ont été détectés en parc zoologique sur des cervidés (ex forte mortalité de daims dans le Maine et Loire). Le CNR a reçu 16 prélèvements de foie/rate/moelle osseuse de cerfs/daims/biches et mis en évidence la présence de *Clostridium septicum* sur plusieurs organes et sur cadavres très frais (7 souches isolées pendant cet épisode).

Les souches de *Clostridium botulinum* sont des souches isolées au CNR à partir de contenus intestinaux d'animaux atteints de botulisme.

Les souches de *Clostridium perfringens* d'origine vétérinaire sont dans la plupart des cas, envoyées pour déterminer le typage toxinique. Celui-ci est réalisé par génotypage. Les types toxiques de *C. perfringens* responsables d'affections chez les animaux sont généralement différents de ceux rencontrés chez l'homme. Mais les animaux peuvent être porteurs de types de *C. perfringens* potentiellement pathogènes pour l'homme, comme les souches entérotoxigènes à l'origine des toxi-infections alimentaires. La surveillance de telles souches dans les élevages est un moyen de prévenir les risques.

1.1.1.1.3. Souches d'autres origines (alimentaire et « industrielle »)

Sur la période 2017-2021, le CNR a reçu / isolé 93 souches d'origine alimentaire, environnementale ou autres (collection, EIL...) réparties en fonction des années selon le tableau suivant :

Origine	Nombre de souches / an				
	2017	2018	2019	2020	2021
Alimentaire	14	12	25	12	6
Environnemental	4	0	1	1	3
Autres (collection, EIL ...)	4	0	5	2	4

La plupart des souches de bactéries anaérobies d'origine alimentaire ont été isolées de foyers de type TIAC ou botulisme. Les principales espèces appartiennent au genre *Clostridium*. Les demandes d'analyse, pour ces souches, concernaient des confirmations d'identification, toxinotypie et identification de souches toxigènes au cours d'enquêtes épidémiologiques pour permettre de préciser l'origine de l'intoxication (Botulisme, TIAC à *Clostridium perfringens* ou à *Bacillus cereus*).

Les souches d'origine environnementale isolées / envoyées au CNR sont en majorité du genre *Clostridium*.

Pour les souches dites « autres », elles ont été adressées par divers laboratoires, tels que laboratoires de collections, laboratoires du secteur agroalimentaire, laboratoires pharmaceutiques pour confirmation d'identification et réalisation d'un antibiogramme.

1.1.1.2. Surveillance de la résistance des bactéries anaérobies aux anti-infectieux (hormis *Clostridium difficile)**

* les souches de *Clostridium difficile* reçues au CNR sont ré adressés au laboratoire associé depuis mai 2017. Seules 36 souches ont été testées par le CNR début 2017.

Les laboratoires ne nous demandent que très rarement la réalisation d'un antibiogramme. En effet, les bactéries anaérobies ne présentent généralement pas de résistance aux anti-infectieux, le métronidazole étant une thérapeutique de choix contre les affections à bactéries anaérobies. Cependant, certaines espèces, principalement dans les genres *Bacteroides* et *Fusobacterium* produisent des bêta-lactamases ou des

céphalosporinases et sont de ce fait naturellement résistantes à ce groupe d'antibiotiques. D'autres peuvent acquérir des gènes de résistance aux 5-nitroimidazolés (gènes *nim*).

Nous avons ainsi décidé au cours de ce mandant de réaliser de façon quasi-systématique un antibiogramme selon les recommandations du Comité de l'antibiogramme de la Société française de Microbiologie (CA-SFM). Les données suivantes sont basées sur l'analyse de 463 antibiogrammes réalisés lors de ces cinq dernières années (dont 36 souches de *C. difficile* reçues début 2017).

Métronidazole

Le métronidazole demeure l'antibiotique donné en première intention pour lutter contre les infections à bactéries anaérobies. Il est donc important de suivre l'évolution des résistances.

	2017	2018	2019	2020	2021
% souches résistantes Gram+ (Nbre résistantes /Nbre souches Gram+)	24% (13/54)	66%* (12/18)	13% (7/54)	27% (17/64)	22% (11/50)
% souches résistantes Gram - (Nbre résistantes /Nbre souches Gram-)	16% (4/24)	8% (2/25)	33% (11/33)	12,2% (5/41)	21% (10/48)

*8 /18 Souches naturellement résistantes

Les *Actinobacteriaceae* (genres *Actinobaculum*, *Actinomyces*, *Cutibacterium*, *Propionibacterium*, *Propionimicrobium*, *Varibaculum*, *Bifidobacterium* et genres apparentés etc...) présentent une résistance naturelle plus ou moins importante vis-à-vis de cet antibiotique.

Les souches Gram- testées restent plutôt sensibles au métronidazole. Les données NGS disponibles depuis 2019 de manière quasi-systématique permettent d'observer la présence des gènes de résistance de type *nim* dans le genre *Bacteroides* comme le montre le tableau suivant :

	<i>nimA</i>	<i>nimB</i>	<i>nimD</i>	<i>nimE</i>
2017				1 (<i>B. sp.</i>)
2018	4 (<i>B. fragilis</i> ; <i>B. thetaiotaomicron</i>)			
2019	1 (<i>B. faecis</i>)			1 (<i>B. fragilis</i>)
2020	2 (<i>B. fragilis</i> ; <i>B. thetaiotaomicron</i>)		1 (<i>B. fragilis</i>)	1 (<i>B. fragilis</i>)
2021	1 (<i>B. fragilis</i>)	1 (<i>B. thetaiotaomicron</i>)	2 (<i>B. thetaiotaomicron</i> ; <i>B. ovatus</i>)	2 (<i>B. fragilis</i>)

Amoxicilline et Amoxicilline/Acide Clavulanique

Les résistances à l'amoxicilline sont observées essentiellement chez les bactéries anaérobies à Gram -, notamment du genre *Bacteroides/Parabacteroides*. Le CA-SFM a d'ailleurs supprimé cet antibiotique pour les bactéries de ce genre depuis sa version 2019.

Les souches résistantes à l'association amoxicilline et acide clavulanique, observées sur ces 5 dernières années, appartiennent pour 70% au genre *Bacteroides/Parabacteroides* (56/81).

Pipéracilline/Tazobactam

Cette molécule est testée de manière systématique depuis 2018. En avril 2019, une alerte a été lancée par le CA-SFM à la suite de la non-fiabilité des bandelettes à gradient de concentrations pour mesurer les CMI de pipéracilline-tazobactam. De nombreuses souches nous ont été envoyées pour incohérence entre CMI et disque car cette alerte n'avait pas été pris en compte. Afin de déterminer la susceptibilité à cette molécule, particulièrement pour le genre *Bacteroides*, nous utilisons une technique de micro-dilution en milieu liquide par le système Sensititre™ (Thermo-Fischer).

Les souches résistantes à cette molécule, observées depuis 2019, appartiennent pour 70% au genre *Bacteroides/Parabacteroides*. Seulement 4 souches de bactéries Gram + ont été trouvées résistantes depuis 2019 appartenant aux espèces suivantes : *Clostridium perfringens*, *Enterocloster boltae*, *Eggerthella lenta* et *Paraeggerthella hongkongensis*.

Imipénème

Sauf une souche de *Clostridium baratii* résistante à l'imipénème, toutes les souches résistantes à cet antibiotique, appartiennent au genre *Bacteroides/Parabacteroides* (36 souches au total). Le gène *cfiA* qui code pour une carbapénémase active sur cet antibiotique a été trouvé dans 28 souches.

Clindamycine

Au cours de ces 5 dernières années, 121 souches ont été testées résistantes à la clindamycine, 54% appartiennent au genre *Bacteroides/Parabacteroides* (65 souches). 70% des souches possèdent un gène de type *erm*, *mefA* ou *IsaC* permettant d'expliquer cette résistance.

Rifampicine

Sur les cinq dernières années, le CNR n'a identifié que 12 souches résistantes à la rifampicine dont 3 souches du genre *Bacteroides* et les 3 souches de l'espèce *Erysipelatoclostridium ramosum* envoyées au CNR laissant penser à une résistance intrinsèque à cette molécule pour cette espèce comme décrit dans la littérature (Milos N. Milosavljevic, 2021 ; Forrester JD, 2014; Lavigne JP, 2003).

Pour les souches du genre *Bacteroides*, l'analyse du gène *rpoB* (mécanisme de résistance connu par mutation ponctuelle de la cible) montre des mutations ponctuelles pouvant expliquer cette résistance : pour la souche de *Bacteroides thetaiotaomicron* mutation H487Y et pour les souches de *Bacteroides fragilis* mutation H487N pour la souche de 2018 et les mutations D477N et P525L pour celle de 2021.

Moxifloxacin (Fluoroquinolone 3ème génération)

Depuis 2017, 88 souches ont été testées résistantes à la moxifloxacin dont 47% de souches anaérobies Gram + et 53% de souches Gram -. Parmi les souches Gram -, 79% appartiennent au genre *Bacteroides/Parabacteroides* et 11% au genre *Prevotella*.

Les mutations du gène *gyrA* sont en grande partie responsables de cette résistance. Pour le genre *Bacteroides*, deux mutations sont décrites : S82F et F86L. La majorité des souches résistantes possèdent l'une de ces deux mutations mais pour quelques souches, un autre mécanisme doit permettre d'expliquer cette résistance.

Chloramphénicol

La résistance au chloramphénicol reste rare chez les souches anaérobies. Sur les cinq dernières années, 11 souches ont été testées résistantes à cet antibiotique dont 5 souches du genre *Bacteroides/Parabacteroides*.

Il existe trois types de mécanismes de résistance au chloramphénicol : une réduction de la perméabilité membranaire, une mutation sur la sous-unité 50S du ribosome bactérien et la présence d'une enzyme appelée chloramphénicol acétyltransférase. En recherchant ce dernier gène sur les génomes des souches du genre *Bacteroides* disponibles au CNR, on retrouve ce gène dans 100% des souches de *Bacteroides thetaiotaomicron* (36 génomes) contre 29% des souches de *Bacteroides fragilis* (24/83).

Linézolide

Le linézolide est un antibiotique actif sur les bactéries anaérobies, qu'elles soient à Gram + ou à Gram -.

Les mécanismes conférant une résistance au linézolide comprennent des mutations ponctuelles du gène de l'ARNr 23S, la méthylation de l'ARNr 23S par une méthyl transférase codée par le gène *cfr* ou des modifications d'acides aminés dans la protéine L4 de la sous-unité ribosomale 50S.

Le linézolide est testé de manière systématique depuis 2018, 15 souches ont été testées résistantes à cet antibiotique. 60% de ces souches sont des bactéries Gram + dont 7 souches de l'espèce *Clostridium perfringens*. Une souche de *Bacteroides fragilis* a été trouvée résistante et possède le gène *cfrC*.

Tigécycline

Cette molécule n'est testée en routine que depuis septembre 2019 et 10 souches ont été testées résistantes. 60% de ces souches sont du genre *Bacteroides* et l'analyse de leur génome montre la présence systématique du gène *tetQ* codant pour la « tetracyclin resistance protein » TetQ associé avec le gène *ermF* codant pour la rRNA adénine N-6-méthyltransférase dans 5 cas sur 6 et avec le gène *tetX* codant pour la flavin-dependent monooxygenase dans 2 souches.

Les 4 souches Gram + résistantes à la tigécycline font parties du genre *Clostridium* mais ne possèdent pas les gènes précédemment cités.

Vancomycine

Selon les recommandations du Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie, la résistance à la vancomycine est recherchée uniquement pour les Gram +. Sur ces cinq dernières années, 5 souches de bactéries anaérobies Gram + ont été testées résistantes à la vancomycine.

1.1.1.3. Diagnostic du botulisme

Le volume global d'activité concernant la surveillance du botulisme dans la période 2017-2021 est le suivant :

Diagnostic du botulisme humain	2017	2018	2019	2020	2021
Sérums (recherche de toxine botulique)	150	129	138	119	126
Selles/Liquides gastriques (recherche de toxine botulique et de <i>Clostridium botulinum</i>)	51	83	117	111	68
Sérums (recherche d'anticorps neutralisants les toxines botuliques)	9	15	16	4	12
Echantillons agro-alimentaires					
En relation avec une suspicion de botulisme humain	18	21	60	12	24
Autres	53	22	36	64	45
Echantillons environnementaux					
En relation avec une suspicion de botulisme humain	14	0	0	0	0
Autres	0	21	8	20	180
Diagnostic du botulisme animal					
Echantillons biologiques	130	190	143	82	75
Echantillons d'aliments pour animaux	212	154	133	104	100
TOTAL ANALYSES	637	635	651	516	630
Non conformités/Abandon des analyses	78	12	0	6	51
TOTAL RECEPTION	715	647	651	522	681

1.1.1.3.1. Botulisme humain

Les échantillons, en majorité sérums humains et selles, nous sont adressés par les laboratoires hospitaliers ou laboratoires d'analyses privés sur demande du clinicien ou praticien traitant dans le cadre d'une suspicion de botulisme clinique ou pour étayer un diagnostic différentiel d'un syndrome neurologique de paralysie flasque descendante.

La répartition des partenaires s'étend sur toute la France. Certaines demandes d'analyse de botulisme proviennent de l'étranger.

Lors d'alerte botulisme, le bureau "alerte" de la DGS et la DGAL coordonnent des conférences téléphoniques entre les principaux partenaires (hospitaliers, Santé Publique France, ARS, DDPP, ANSES, ANSM, ...) y compris le CNR qui participe activement à la gestion de la situation. Il faut souligner la coordination entre Santé Publique France et le CNR sur la gestion des foyers de botulisme et les enquêtes pour en déterminer l'origine.

Bilan du botulisme humain en France dans la période 2017-2021

Le botulisme humain en France est une maladie rare mais toujours présente avec 4 à 11 cas annuels entre 2017 et 2021, dont au moins la moitié était des formes très sévères nécessitant des soins intensifs prolongés. Le botulisme alimentaire reste la forme la plus

fréquente (22/31 soit 71% des foyers de la période considérée) et 9 cas de botulisme infantile (1 à 3 cas/an). Des cas de botulisme iatrogène ont également été fortement suspectés cliniquement à 4 reprises à la suite d'injections de toxine botulique à visée thérapeutique ou esthétique. Des demandes d'aide au diagnostic en provenance de l'étranger nous sont également régulièrement adressées (Suisse, Grèce, Colombie, Cameroun, Liban, etc....). Trois cas de botulisme infantile et un cas de botulisme alimentaire ont ainsi été confirmés par le CNR sur cette période pour l'Amérique du Sud, l'Arabie Saoudite ou le Maroc.

Ces données confortent la nécessité de maintenir une surveillance attentive du botulisme humain.

Les résultats globaux du botulisme dans la période 2017-2021 sont présentés ci-dessous. Le détail des analyses concernant l'année 2021 tel que présenté annuellement à SPF est disponible en Annexe de ce document.

Année	2017	2018	2019	2020	2021
Nombre de foyers (cas) déclarés					
Type A	0	1 (1)	2 (3)	2 (3)	2 (2)
Type B	3 (4)	5 (6)	7 (8)	3 (6)	3 (3)
Type Bf	0	0	0	2 (2)	0
Type E	0	0	0	0	1 (2)
Non typé	0	1 (4)	0	0	0
Suspicion	1 (1)	4 (4)	5 (7)	2 (3)	2 (3)
Total	3 (4) 1 suspicion (1)	7 (11) 4 suspicions (4)	9 (11) 5 suspicions (7)	7 (11) 2 suspicions (3)	6 (7) 2 suspicions (3)
Formes de botulisme					
Botulisme alimentaire	2 (3)	6 (10)	7 (9)	5 (9)	2 (3) + 1 forme alimentaire suspectée (1)
Botulisme infantile	1 (1)	1 (1)	2 (2)	2 (2)	3 (3)

Sur la période 2017-2021, les aliments responsables ont pu être analysés et confirmés biologiquement dans 7 foyers (*ie* 32% des foyers de botulisme humain alimentaire) et identifiés ou fortement suspectés pour 12 autres foyers. La principale difficulté dans l'investigation de l'origine alimentaire du botulisme est l'absence d'échantillon représentatif d'aliment au moment de l'enquête du fait que bien souvent la suspicion de botulisme est tardive et il ne reste plus d'aliment suspect à analyser. De façon remarquable, aucun foyer n'est lié à la consommation de jambon de préparation familiale ou artisanale, historiquement à l'origine de nombreux foyers de botulisme de type B4 en France (12 sur la période 2011-2016 par exemple) traduisant une diminution de ce type de préparation ou consommation en France et/ou un respect plus strict des mesures d'hygiène, concentration et temps de saumurage au cours de la fabrication.

Le botulisme de type B, notamment B2, reste majoritaire mais est associé à la consommation de produits beaucoup plus variés que les traditionnelles charcuteries à base de viande de porc (conserves et soupes de légumes, viande de bœuf, foie gras d'oie, pesto à l'ail des ours, fanes de navets à l'huile). Les cas les plus dramatiques restent ceux associés au

type A dont la responsabilité était imputable à des conserves de lentilles, soupe Butternut ou pâté de fabrication familiale ou artisanale. Une soupe de légumes industrielle a été à l'origine d'un cas très grave de botulisme de type A5 en 2019, sous-type rarement décrit dans le monde, précédemment identifié en France en 2011 dans une boîte de pâtes à la carbonara également d'origine industrielle.

Egalement pour la seconde fois et à 12 ans d'intervalle, un foyer de type E12 impliquant gravement 2 jeunes adultes a été identifié. De façon remarquable, ce sous type extrêmement rare a été décrit uniquement en France et précisément à Strasbourg à deux reprises. L'aliment à l'origine du premier foyer en 2009 était un jambon fumé artisanal, un hachis Parmentier de canard, également artisanal et local, est responsable du second foyer identifié en 2021.

Année	Foyer	Cas	Type	Aliment	Type de préparation
2017	1	2	B2	<i>Terrine de lièvre</i>	familiale
2017	1	1	B2	Boulettes au soja, tomate et basilic ou jambon à découper	industrielle
2018	1	1	B	<i>Conserves de soupes de légumes</i>	familiale
2018	1	2	B	<i>Conserves de haricots verts</i>	familiale
2018	1	4	ND	<i>Conserves de ratatouille</i>	familiale
2018	1	1	A2b2	Conserves de lentilles	familiale
2018	1	1	B	<i>Fessek (Mulet mariné/Plat traditionnel égyptien)</i>	familiale
2019	1	2	A	<i>Conserves de soupe (Butternut, poudre amande, curcuma, poireaux)</i>	familiale
2019	1	1	B2	Conserves d'haricots plats achetés au supermarché (provenance Maroc)	familiale
2019	1	1	B4	<i>Viande des Grisons suspectée</i>	industrielle
2019	1	1	B	<i>Conserves de harengs</i>	familiale
2019	1	1	A5	<i>Soupe de légumes</i>	industrielle
2020	1	2	B	<i>Viande des bœuf séchée ou fumée d'origine Serbe</i>	familiale
2020	1	3	B4	Foie gras d'oie	artisanale
2020	1	1	B2	<i>Conserve "Boles de Picolat"= boulettes de viande en sauce</i>	artisanale
2020	1	2	A	<i>Pâté en bocal</i>	artisanale
2020	1	1	B5f2	Pesto à l'ail des ours	familiale
2021	1	2	E12	Hachis Parmentier de canard	artisanale
2021	1	1	B2	<i>Sandwich à bases de fanes de navets à l'huile (consommé en Italie)</i>	artisanale

Aliments identifiés à l'origine de botulisme alimentaire humain, période 2017-2021

Décrit pour la première fois en 1976 aux Etats-Unis, le botulisme infantile qui touche les nouveaux nés de moins de 12 mois est la conséquence de l'ingestion de spores de *Clostridium botulinum* ou apparentés. La colonisation suivie de la germination et multiplication de la bactérie dans le tube digestif s'accompagnent de production de toxine botulique *in situ* qui déclenche la maladie. Auparavant extrêmement rarissime (1 observation en 1991 puis 7 cas entre 1991 et 2009) cette forme de botulisme est plus fréquemment déclarée en France ces dernières années : 17 cas ont été identifiés entre 2010 et 2021 dont 9 dans la période 2017-2021.

Comme pour la forme alimentaire, le type B est majoritairement représenté (8/17 cas), notamment le sous-type B2 (5/8 cas de type B) dont deux paires de souches identiques (New ST* et New ST[§]), non recensées à ce jour dans la base PubMed MLST de *Clostridium botulinum*, sans lien géographique et/ou temporel (Région PACA, 2017 et Grand Est, 2021 pour ST[§]; PACA, 2016 et Auvergne-Rhône-Alpes, 2018 pour ST*). Six cas de botulisme infantile étaient de type A, notamment de sous-type A2 (4/6 cas de type A) dont 2 souches identiques (ST26) en 2011 (Ile de France) et 2013 (Occitanie). Enfin, pour les 3 autres cas de botulisme infantile, également sans lien évident, une même souche de *Clostridium botulinum* bivalente (ie productrice de 2 types de toxines botuliques) de type B5f2, ST14 a été isolée des selles des enfants en 2013 (Ile de France et Nouvelle Aquitaine) et en 2020 (Ile de France). La consommation de miel ou tisanes contaminés par des spores de *Clostridium botulinum* est le seul facteur de risque alimentaire documenté à ce jour. Sur cette période, les analyses des aliments consommés par les nourrissons (miel, lait infantile, petits pots, soupes, eaux ...) éventuellement disponible n'ont jamais révélées la présence de *Clostridium botulinum*. Certains pots de miel contiennent néanmoins de nombreuses spores de bactéries anaérobies (*Clostridium sporogenes*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium tetani*) confirmant le potentiel danger de la consommation de cet aliment par les très jeunes enfants. L'origine de ces cas, comme la très grande majorité des cas de botulisme infantile, n'a donc pas été identifiée. Une source de contamination possible des nouveaux nés est l'ingestion de spores répandues dans la terre et les sédiments et portées par des poussières. La notion d'importants travaux en cours dans l'environnement proche de certains de ces enfants est en faveur d'une potentielle contamination environnementale.

Année	Foyer = cas	Souche isolée	Type	ST	REGION	VILLE
2010	0	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
2011	1	2011/00746	A2	26	Ile de France	Paris
2012	1	2012/00088	A1(B)	15	Occitanie	Montpellier
2013	1	2013/00303	A2	22	Normandie	Rouen
2013	1	2013/00429	A2	26	Occitanie	Toulouse
2013	1	2013/00809	B5f2	14	Ile de France	Paris
2013	1	2013/00094	B5f2	14	Nouvelle Aquitaine	Pau
2014	0	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
2015	1	2015/00063	B5	102	Occitanie	Montpellier
2016	1	2016/00538	B2	New ST*	PACA	Nice
2017	1	2017/00151	B2	New ST ^{\$}	PACA	Marseille
2018	1	2018/00070	B2	New ST*	Auvergne Rhône-Alpes	Lyon
2019	1	Non	B	N/A	Auvergne Rhône-Alpes	Clermont-Fd
2019	1	2019/00082	B2	New ST	Occitanie	Montpellier
2020	1	2020/00430	A1(B)	10	Occitanie	Toulouse
2020	1	2020/00552	B5f2	14	Ile de France	Clamart
2021	1	2021/00141	A2	New ST	Nouvelle Aquitaine	Bordeaux
2021	1	2021/00605	B1	30	Ile de France	Paris
2021	1	2021/00659	B2	New ST ^{\$}	Grand Est	Reims

*,^{\$} ST identique

Botulisme infantile déclarés en France, 2010-2021

Diagnostic différentiel des affections avec un tableau de paralysie flasque et/ou de trouble dysautonomique

Le botulisme est fréquemment pris en compte dans le diagnostic différentiel des paralysies flasques incluant les neuropathies auto-immunes comme le syndrome de Guillain Barré ou de Miller-Fisher, les myasthénies ou des accidents vasculaires (AVC). L'élimination d'un éventuel botulisme lors d'un tableau clinique de paralysie flasque ou de troubles dysautonomiques tels que défaut d'accommodation ou sécheresse de la bouche est une interrogation fréquente des cliniciens. Sur la période 2017-2021, un total de 80 demandes de ce type ont été adressées au CNR dont le détail figure dans le tableau ci-dessous. A la suite de nos résultats négatifs pour le diagnostic de botulisme et évoquant une autre origine des paralysies et diminution des sécrétions (origine auto-immune ou autre), les analyses complémentaires menées par les laboratoires demandeurs permettent de réorienter ou de confirmer un second diagnostic.

Mort inattendue du nourrisson (MIN)

La mort inattendue du nourrisson (MIN) représente la première cause de mortalité en France entre 1 mois et 1 an soit dans des conditions d'âge identique au botulisme infantile. La présence de toxine botulique dans le sérum et/ou *Clostridium botulinum* dans les selles de certains enfants décédés confirme que le botulisme infantile serait un des facteurs étiologiques de MIN (Sonnabend O et al, Lancet). Ainsi, dans le but de comprendre les mécanismes et les causes de l'accident mortel, accompagner les parents et définir des pistes de prévention, le Centre de Référence MIN (CRMIN Languedoc Roussillon implanté au CHU de Montpellier nous envoie régulièrement des prélèvements d'autopsie d'enfants victimes. Les recherches de toxine botulique et/ou *Clostridium botulinum* réalisées sur 29 cas sur la période 2017-2021 se sont toutes révélées négatives. Il est très surprenant que ces demandes nous parviennent d'un unique CRMIN parmi la trentaine répartie sur le territoire français. La portée de ces résultats est donc très limitée et ce bilan interprété avec prudence.

Type	Nombre
Guillain Barré/Lambert Eaton/Miller Fisher	29
Suspicion ou autre neuropathie auto-immune (diagnostic finalement posé non connu par le CNR)	25
Myasthénie	7
AVC	2
Polyradiculonévrite Méningoradiculite/Méningoencéphalite	9
Sclérose latérale amyotrophique	2
Coxelliose	1
Amyotrophie spinale infantile	1
Sepsis	1
Intoxication à l'atropine	1
Encéphalite idiopathique	1
Myélite	1
Total	80

Mort inexpliquée du nourrisson (MIN)	29
--------------------------------------	----

Diagnostics différentiels et MIN, 2017-2021

Recherche et titrage d'anticorps anti-toxine botulique A

La toxine botulique, essentiellement de type A, est largement prescrite dans le traitement de certaines affections neurologiques comme les dystonies (torticolis spasmodique, blépharospasme, dysphonie spasmodique, crampes de l'écrivain et du musicien, ...), hyperhidroses axillaires, et instabilités vésicales. Les injections de Botox sont également abondamment utilisées en médecine esthétique pour réduire les rides d'expression. A la suite d'injections répétées, certains sujets deviennent non-répondeurs en développant des anticorps neutralisants. Sur la période 2010-2021, 294 demandes de recherche d'anticorps neutralisants les toxines botuliques ont été adressées au CNR, dont 51 entre 2017 et 2021. Cette recherche s'est révélée positive pour un nombre très limité de cas (36 soit 12% de 2010 à 2021 dont 7 sur la période 2017-2021 soit 13,7%).

1.1.1.3.2. Botulisme agro-alimentaire et environnemental

Des prélèvements alimentaires nous sont adressés dans le cadre de foyers avérés ou suspects de botulisme humain. Ces échantillons nous sont envoyés par les agents chargés des enquêtes d'hygiène alimentaire et appartenant aux Agences Régionales de Santé et Directions Départementales de la Protection des Populations ou parfois sur réquisition de la Préfecture de Police ou du Tribunal lors d'enquête judiciaire. La quantité d'analyses réalisées annuellement est très dépendante du nombre d'alertes, de la nature de l'aliment suspecté être à l'origine des foyers (industriel vs familial), de la quantité d'aliments identifiés à risque

retrouvés au domicile des patients, etc.... Entre 2017 et 2021, une trentaine d'aliments ont été analysés annuellement en moyenne (Min :12 ; Max :60).

Nous recevons également régulièrement des échantillons alimentaires ou environnementaux de la part d'industriels pour des contrôles de fabrication ou d'enquêtes sur le botulisme animal. En 2021, plusieurs prélèvements environnementaux (Carottes de Silo, Eau d'abreuvement, Compost, Végétation superficielle) réalisés dans le cadre de foyers de botulisme bovin et/ou aviaire se sont révélés positifs pour la toxine botulique et/ou *Clostridium botulinum* de type B, C/D ou D/C (cf. tableau en annexe).

1.1.1.3.3. Botulisme animal

Le diagnostic du botulisme animal est généralement réalisé par les laboratoires vétérinaires départementaux ou régionaux ainsi que par le Laboratoire National de Référence (LNR) du botulisme aviaire de Ploufragan (ANSES) avec lequel nous collaborons étroitement. Les demandes d'analyse de botulisme animal que nous recevons proviennent de laboratoires vétérinaires départementaux ou privés et concernent essentiellement des confirmations d'examens réalisés en première intention, de typage de botulisme ou d'analyses de foyers et de cas litigieux en soutien au LNR. Notre rôle consiste principalement en une activité d'expertise basée sur des confirmations ou infirmations de premières analyses et de typage de botulisme. Le détail des analyses concernant le botulisme animal pour l'année 2021 sont données en annexe.

Botulisme bovin. Le botulisme bovin est endémique dans l'Ouest de la France depuis les années 1980. Sur la période 2017-2021, un total de 246 prélèvements biologiques de bovin (foie, rumen, contenu intestinal) représentant 74 foyers ont été analysés par le CNR. Le botulisme a été confirmé biologiquement pour 29% des foyers (22/74), de type mosaïque D/C pour une large majorité (20/22 soit 91% des foyers positifs). Un foyer était de type mosaïque C/D, plus classiquement retrouvé à l'origine de botulisme aviaire tandis qu'un dernier élevage était atteint d'un type C en lien avec la présence d'un cadavre de chat dans un silo d'alimentation du bétail.

Botulisme des oiseaux sauvages. Chaque année en France et dans toute l'Europe occidentale, les oiseaux sauvages, en particulier les canards et autres oiseaux aquatiques, paient un lourd tribut au botulisme, essentiellement en saison chaude et sèche. Sur la période 2017-2021, 216 échantillons (sérum, foie, contenus intestinaux) représentant 66 foyers ont été analysés. Le botulisme a été confirmé biologiquement dans 50 foyers (dont un au Portugal). Les souches de *Clostridium botulinum* isolées des oiseaux sauvages correspondent toutes au type mosaïque C/D (incluant le foyer portugais). L'année 2018 a été marquée par un nombre important de foyers confirmés (21 contre 3 à 12 les 4 autres années de la période) et la détection d'une double contamination à *Clostridium botulinum* de type C/D et E chez un cygne retrouvé mort dans le Loiret. La même observation a été faite de façon concomitante par le LNR chez deux autres espèces sauvages (canard et cigogne) dans deux autres régions françaises. Bien que rare et potentiellement anecdotique en faune sauvage, une contamination par un type E, pathogène pour l'homme, aurait une incidence bien plus grande en élevage de volailles. Cette observation conforte pour le moins le besoin

et l'intérêt de maintenir ces deux systèmes de surveillance ainsi qu'une collaboration étroite entre LNR et CNR.

Botulisme des oiseaux d'élevage. Le botulisme est également fréquent dans les élevages industriels de volailles (poulets, dindes, canards...). Outre les pertes économiques, parfois très importantes en élevage, le botulisme aviaire représente un risque de santé humaine. Le CNR n'intervient maintenant que très rarement pour le diagnostic des oiseaux d'élevage, celui-ci étant assuré par le LNR. De 2017 à 2021, 47 échantillons provenant de 23 élevages ont été analysés par le CNR. Le botulisme a été confirmé biologiquement dans 8 foyers : 6 types C/D, 1 type D et 1 type D/C.

1.1.2. CONSEIL AUX PROFESSIONNELS OU AUX AUTORITES DE SANTE

Le CNR Bactéries anaérobies et botulisme a mis à disposition des numéros de téléphone (01 45 68 84 56 / 01 45 68 83 10), des adresses email (christelle.mazuet@pasteur.fr, laure.diancourt@pasteur.fr et cnranaerobies@pasteur.fr) afin de répondre aux demandes de conseils (thérapeutiques, diagnostic différentiel de neuropathies de type paralysie flasque, pré analytiques, interprétation des résultats) des professionnels de santé. Le CNR est également régulièrement consulté par des vétérinaires, biologistes de laboratoires vétérinaires, industriels de l'agro-alimentaire sur les risques d'affections à bactéries anaérobies, le diagnostic et la conduite à tenir, et plus particulièrement botulisme et entérotoxémies.

Des cahiers d'enregistrement/traçabilité/transmission des prestations de conseils délivrées aux professionnels de santé, vétérinaires, industriels, particuliers ont été mis en place à chaque poste téléphonique. Sur la période 2017-2021 le CNR a répondu en moyenne à 200 emails et 200 appels téléphoniques par an.

Les responsables du CNR ont été régulièrement en contact avec SpF pour l'investigation des suspicions et foyers de botulisme ou TIAC à *Clostridium perfringens* et *Bacillus cereus*.

Le site web du CNR¹ et de son laboratoire associé, hébergé à l'Institut Pasteur, a été actualisé en début de mandat en 2017. Les informations et fiches de renseignements devant accompagner les prélèvements ont été revues au moins annuellement et mises à jour si nécessaire.

Christelle Mazuet est Expert du Groupe de Travail « Socle Botulisme » rattaché au Comité d'Experts Spécialisé « Santé et bien-être des animaux » de l'ANSES saisi par la DGAL pour effectuer une mise à jour des connaissances et une évaluation des risques en appui des mesures de gestion dans les filières avicole, bovine et en faune sauvage, lors de suspicions et de confirmations de cas de botulisme.

¹ <http://www.pasteur.fr/fr/sante/centres-nationaux-reference/les-cnr/bacteries-anaerobies-et-botulisme>

1.1.3. CONTRIBUTION A LA SURVEILLANCE EPIDEMIOLOGIQUE

La situation épidémiologique du botulisme fait l'objet d'une mise au point régulière avec Santé publique France, avec pour principal interlocuteur Mme Nathalie Jourdan da Silva. Des échanges avec SpF, les cliniciens concernés, l'ARS et éventuellement avec les Services Vétérinaires et la Direction Générale de la Santé sont établis pour chaque foyer identifié ou suspicion. Les données du CNR sont confrontées tous les ans aux déclarations obligatoires de cas de botulisme humains reçues par SpF. Des études communes présentant la situation du botulisme en France sont régulièrement publiées dans le Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire (BEH).

Christelle Mazuet est Expert du Groupe de Travail « Socle Botulisme » rattaché au Comité d'Experts Spécialisé « Santé et bien-être des animaux » de l'ANSES saisie par la Direction générale de l'alimentation pour effectuer une mise à jour des connaissances et une évaluation des risques en appui des mesures de gestion dans les filières avicole, bovine et en faune sauvage, lors de suspicions et de confirmations de cas de botulisme. Elle répond également aux demandes d'expertises "MOT" de l'ANSM (audition par le Comité Scientifique Spécialisé Temporaire (CSST) pour la révision de la liste des MOT, saisine Liste MOT/Partie de MOT, ...).

Contribution aux réseaux de surveillance européens et international

Notre laboratoire est régulièrement sollicité pour le diagnostic et la surveillance du botulisme dans les DROM comme La Réunion et Mayotte, et de plus en plus fréquemment dans d'autres pays européens (Suisse, Portugal, Espagne, Grèce), d'Amérique du Sud, d'Afrique du Nord et l'Arabie Saoudite. Depuis août 2018, à la demande des autorités de santé suisse, le CNR réalise de façon formelle le diagnostic biologique de botulisme humain pour la Suisse, et s'est engagé à signaler les cas sur leur plateforme dédiée.

Le CNR participe et/ou organise chaque année depuis 2016 à un Essai Interlaboratoire (EIL) avec l'Institut de recherche biovétérinaire de Wageningen (WBVR, The Netherlands, Miriam Koene & Marc Engelsma) et le Laboratoire National du Botulisme et autres Clostridies zoonotiques belge (Institut de Santé, Sciensano, Bruxelles, Tom Van Nieuwenhuysen) afin d'évaluer, de comparer et d'échanger sur la capacité et la méthodologie de nos trois laboratoires pour le diagnostic du botulisme humain et animal. Le LNR du botulisme aviaire (ANSES, Ploufragan) a rejoint le groupe l'an dernier. Le CNR a également participé en 2019 à un EIL organisé par le Centre National de Référence du botulisme italien (Fabrizio Anniballi, Rome) dans le cadre d'un projet européen.

Christelle Mazuet est membre du comité de nomenclature des types et sous-types de toxines botuliques coordonné par le CDC d'Atlanta.

1.1.4. CONTRIBUTION A L'ALERTE

Les bactéries anaérobies ne sont généralement pas à l'origine de phénomènes épidémiques. Hormis le botulisme (maladie à déclaration obligatoire) et les infections sévères ou épidémiques à *C. difficile*, il n'y a donc pas de procédure d'alerte pour les affections à bactéries anaérobies.

Botulisme : Chaque cas de botulisme confirmé biologiquement par le CNR a fait l'objet d'une déclaration par email ou téléphone à Santé publique France (SpF). En outre, le CNR a eu régulièrement des contacts téléphoniques ou par courrier électronique avec SpF, les ARS, la DGAL et les cliniciens pour faire le point sur les foyers de botulisme en cours et sur des suspicions de botulisme. L'alerte est déclenchée lorsqu'il y a un risque de santé publique, notamment avec un produit alimentaire du commerce.

Alertes Biotox : Dans le cadre du plan gouvernemental NRBC de 2016, le CNR a été réquisitionné le weekend à deux reprises en 2017 lors de l'activation du RNLB2P :

- En aout, suite à deux décès violents et simultanés dans le département 28 : suspicion de contamination à la toxine botulique de conserves industrielles.
- En octobre, suspicion de tentative d'empoisonnement à la toxine botulique d'un château d'eau dans le département 78.

Le CNR a procédé aux recherches de toxines botuliques et a également participé aux conférences téléphoniques organisées par la DGS/CORRUS pour la première suspicion.

TIAC à *Bacillus cereus/cytotoxicus* et *Clostridium perfringens*: Sur la période 2017-2021, le CNR a participé aux côtés de SpF, DGS, ARS, DDPP, DGCCRF, DGAL, ANSES, OCLAESP ou les services de santé aux armées, à l'investigation de 20 TIAC à *Clostridium perfringens* (n=16) ou *Bacillus cereus/cytotoxicus* (n=4) survenues: dans des EHPAD (11 foyers ; 11 décès), des unités militaires (6 foyers ; > 370 malades), en restaurant d'entreprise (1 foyer ; 120 malades), dans le cadre familial (1 foyer, 1 décès) ou dans un restaurant sur l'île de La Réunion (1 foyer).

Sur la période 2017-2021, les alertes les plus importantes et inquiétantes ont été celles déclenchées à l'occasion de la survenue de :

- ✓ En 2018, 12 TIAC graves notamment celles survenues à 8 reprises dans des EHPAD dont 2 à *Bacillus cytotoxicus* (ST 2121) ayant entraîné la mort de 7 patients. Cette souche a été décrite à la suite d'une TIAC sévère ayant entraîné la mort de trois résidents d'EHPAD en 1998. Elle semble particulièrement virulente et une très forte prévalence de *B. cytotoxicus* est rapportée dans les purées de pommes de terre en flocons.
- ✓ En 2019, 1 foyer (1 cas) très sévère de botulisme alimentaire de type A5 lié à la consommation d'une soupe de légumes industrielle. Ce sous type rare a été à l'origine d'un unique autre foyer en France en 2011 à la suite de l'ingestion de pâtes à la carbonara également d'origine industrielle. Dans les deux cas, l'aliment avait été consommé après la date limite et/ou conservé à une température inappropriée.

- ✓ En 2021, également pour la seconde fois en France et à 12 ans d'intervalle, un foyer (2 cas) de type E12 lié à la consommation d'un hachis de canard artisanal. De façon remarquable, ce sous type extrêmement rare a été décrit uniquement en France et précisément à Strasbourg à deux reprises. L'aliment à l'origine du premier foyer en 2009 était un jambon fumé artisanal.

LISTE DES PUBLICATIONS

CNR COORDONATEUR

2. LISTE DES PUBLICATIONS

2.1. Publications nationales

- Pingeon JM, Vanbockstael C, Popoff MR, King LA, Deschamps B, Pradel G, Dupont H, Spanjaard A, Houdard A, Mazuet C, Belaizi B, Bourgeois S, Lemgueres S, Debbat K, Courant P, Quirin R, Malfait P.

Two outbreaks of botulism associated with consumption of green olive paste, France, September 2011.

Euro Surveill 2011, 16 (49): 20035.

- Mazuet C., Bouvet P., King L. A., Popoff M. R.

Le botulisme en France, 2007-2009.

Bull. Epidemiol. Hebdo. 2011, 6: 49-53.

- Mazuet C., King L. A., Bouvet P., Legeay C., Sautereau J., Popoff M. R.

Le botulisme humain en France 2010-2012.

Bull. Epidemiol. Hebdo. 2014, 6: 106-114.

- Aurélie Ventujol, Anouk Decors, Caroline Le Maréchal, Virginie Allain, Christelle Mazuet, Marie-Hélène Bayon-Auboyer, Eva Faure, Matthieu Guillemain, Sophie Le Bouquin, Rozenn Souillard
Le botulisme dans l'avifaune sauvage en France de 2000 à 2013

Réseau SAGIR, 2017, Surveillance sanitaire de la faune sauvage en France.

Lettre n° 186. Ed. Office national de la chasse et la faune sauvage.

- Aurélie Ventujol, Anouk Decors, Caroline Le Maréchal, Jean-Yves Toux, Virginie Allain, Christelle Mazuet, Marie-Hélène Bayon-Auboyer, Sophie Le Bouquin, Rozenn Souillard

Le botulisme aviaire en France: Etude des cas signalés dans la faune sauvage et dans les élevages par deux réseaux de surveillance entre 2000 et 2013

Epidémiologie et Santé Animale 2017, 72, 85-102.

- C Mazuet, N Jourdan-Da Silva, C Legeay, J Sautereau, M R. Popoff

Le botulisme humain en France, 2013-2016// Human Botulism in France, 2013-2016

Bull Epidémiol Hebd. 2018;(3): 46-54.

2.2. Publications internationales

- Ferracci G., Marconi S., Mazuet C., Jover E., Blanchard M. P., Seagar M., Popoff M., Levêque C.
A label-free biosensor assay for botulinum neurotoxin B in food and human serum.

Anal. Biochem. 2011, 410: 281-288

- Hoarau G, Pelloux I, Gayot A, Wroblewski I, Popoff MR, Mazuet C, Maurin M, Croizé J.

Two cases of infant botulism in Grenoble, France: no honey for infants.

Eur J Pediatr 2012, 171: 589-591

- Connan C, Brueggemann H, Mazuet C, Raffestin S, Cayet N, Popoff MR.

Two component systems are involved in the regulation of botulinum neurotoxin synthesis in *Clostridium botulinum* type A strain Hall

PlosOne 2012, 7: e41848

- Mazuet C, Ezan E, Volland H, Popoff MR, Becher F.

Two outbreaks of type A botulism in France, toxin detection in patients' serum by mass spectrometry.

J. Clin. Microbiol. 2012, 50: 4091-4094.

- Connan C., Denève C., Mazuet C., Popoff MR.

Regulation of toxin synthesis in *Clostridium botulinum* and *Clostridium tetani*.

Toxicon 2013, 75:90-100.

- Vanhomwegen J, Berthet N, Mazuet C, Guigon G, Vallaëys T, Stambolliyska R, Dubois P, Kennedy GC, Cole ST, Caro V, Manuguerra JC, Popoff MR.

Application of high-density DNA resequencing microarray for detection and characterization of botulinum neurotoxin-producing clostridia.

PlosOne 2013, 8(6): e67510.

- Burgain A, Rochard A, Trollet C, Mazuet C, Escriou V, Scherman D, Bigey P.

DNA electroporation in rabbits as a method for generation of high-titer neutralizing antisera: examples of the botulinum toxins types A, B, and E.

Hum Vaccin Immunother 2013, 9(10): 2147-2156.

- Bouvet P, Ruimy R, Bouchier C, Faucher N, Mazuet C, Popoff MR.

An atypical *Clostridium* strain related to the *Clostridium botulinum* group III isolated from a human blood culture.

J Clin Microbiol 2014, 52: 339-343.

- Lévêque C., Ferracci G., Maulet Y., Mazuet C., Popoff M., Seagar M. El Far O.

Direct biosensor detection of botulinum neurotoxin endopeptidase activity in sera from patients with type A botulism.

Biosensors Bioelectronics 2014, 57: 207-212.

- Knapp O, Maier E, Waltenberger E, Mazuet C, Benz R, Popoff MR.

Residues involved in the pore-forming activity of the *Clostridium perfringens* Iota toxin.

Cell. Microbiol. 2015, 17: 288-302.

- Mazuet C, Sautereau J, Legeay C, Bouchier C, Bouvet P, Popoff MR.

An Atypical Outbreak of Food-Borne Botulism Due to *Clostridium botulinum* Types B and E from Ham.

J Clin Microbiol 2015, 53(2):722-726.

- Castor C, Mazuet C, Saint-Leger M, Vygen S, Coutureau J, Durand M, Popoff M, Jourdan Da Silva N.

Cluster of two cases of botulism due to *Clostridium baratii* type F in France, November 2014.

Euro Surveill 2015, 20(6), 21031.

- Mazuet C, Sautereau, Legeay C., Bouchier C, Bouvet P., Popoff MR.

Characterization of the first *Clostridium baratii* strain responsible for an outbreak of botulism type F in France

Clinical Microbiology & Case Reports 2015 1(1) 008.

- Berthet N, Perichon B, Mazuet C., Bouchier C, Bouvet P., Legeay C., Popoff M-R., Courvalin P.

A cryptic vanG-type locus in *Clostridium argentinense*.

J. Antimicrob. Chemother. 2015, 70 :1942-1945.

- Connan C, Varela Chavez C, Mazuet C, Molgo J, Haustant GM, Disson O, Lecuit M, Vandewalle A, Popoff MR.

Translocation and dissemination to target neurons of botulinum neurotoxin type B in the mouse intestinal wall

Cell Microbiol 2016, 18: 282-301.

Rasetti-Escargueil C, Avril A., Chaboun S., Tierney R., Bak N, Miethe S, Mazuet C, Popoff MR, Thullier P, Hust M, Pelat T, Sesardic D.

Development of human-like scFv-Fc antibodies neutralizing Botulinum toxin serotype B
MAbs 2015, 7(6):1161-1177

- Miethe S, Rasetti-Escargueil C, Avril A, Liu Y, Chahboun S, Korkeala H, Mazuet C, Popoff MR, Pelat T, Thullier P, Sesardic D, Hust M.

Development of Human-Like scFv-Fc Neutralizing Botulinum Neurotoxin E
PLoS One 2015, 10(10): e0139905.

- Avril A, Miethe S, Popoff MR, Mazuet C, Chahboun S, Rasetti-Escargueil C, Sesardic D, Thullier P, Hust M, Pelat T.

Isolation of nanomolar scFvs of non-human primate origin, cross-neutralizing botulinum neurotoxins A1 and A2 by targeting their heavy chain
BMC Biotechnol 2015, 15:86.

- Morineaux V, Mazuet C, Hilaire D, Enche J, Popoff MR

Characterization of botulinum neurotoxin type A subtypes by immunocapture enrichment and liquid chromatography-tandem mass spectrometry
Anal Bioanal Chem. 2015, 407: 5559-5570.

- Mazuet C., Bouchier C., Popoff MR

Draft genome sequence of *Clostridium botulinum* strain 277-00 type B2
Genome Announc. 2015, 3(2): e00211-15

- Lévêque C., Ferracci G., Maulet Y., Mazuet C., Popoff MR

An optical biosensor assay for rapid dual detection of Botulinum neurotoxins A and E
Sci Rep 2015 5: 17953

- Tréhard H., Poujol I., Mazuet C., Blanc Q., Gillet Y., Rossignol F, Popoff MR, Jourdan da Silva N.

A cluster of three cases of botulism due to *Clostridium botulinum* type F, France, August 2015.
Euro Surveill 2016, 21 (4): 30117.

- Mazuet C., Yoon EJ, Boyer S., Pignier S., Doebling I., Meziane-Cherif D., Dunant-Forest C., Sautereau J., Legezay C., Bouvet P., Bouchier C., Quijano-Roy S., Pestel-Caron M., Courvalin P., Popoff MR

A penicillin and metronidazole resistant *Clostridium botulinum* strain responsible for an infant botulism case
Clin Microbiol Infect 2016.

- Mazuet C., Legay C., Sautereau J., Ma L; Bouchier C., Bouvet P., Popoff MR

Diversity of group I and II *Clostridium botulinum* strains from France including recently identified subtypes
Genome Biol Evol 2016, 8 (6): 1643-1660.

- Relun A, Dorso L, Douart A, Chartier C, Guatteo R, Mazuet C, Popoff MR, Assié S.

A large outbreak of bovine botulism possibly linked to a massive contamination of grass silage by type D/C *Clostridium botulinum* spores on a farm with dairy and poultry operations.
Epidemiol Infect. 2017 Dec;145(16):3477-3485

- Rasetti-Escargueil C, Avril A, Miethe S, Mazuet C, Derman Y, Selby K, Thullier P, Pelat T, Urbain R, Fontayne A, Korkeala H, Sesardic D, Hust M, Popoff MR.

The European AntibotABE Framework Program and Its Update: Development of Innovative Botulinum Antibodies.

Toxins (Basel). 2017 Oct 2;9(10)

- Féraudet-Tarisse C, Mazuet C, Pauillac S, Krüger M, Lacroux C, Popoff MR, Dorner BG, Andréoletti O, Plaisance M, Volland H, Simon S.

Highly sensitive sandwich immunoassay and immunochromatographic test for the detection of Clostridial epsilon toxin in complex matrices.

PLoS One. 2017 Jul 11;12(7)

- Connan C, Voillequin M, Chavez CV, Mazuet C, Leveque C, Vitry S, Vandewalle A, Popoff MR.

Botulinum neurotoxin type B uses a distinct entry pathway mediated by CDC42 into intestinal cells versus neuronal cells.

Cell Microbiol. 2017 Aug;19(8)

- Peck MW, Smith TJ, Anniballi F, Austin JW, Bano L, Bradshaw M, Cuervo P, Cheng LW, Derman Y, Dorner BG, Fisher A, Hill KK, Kalb SR, Korkeala H, Lindström M, Lista F, Lúquez C, Mazuet C, Pirazzini M, Popoff MR, Rossetto O, Rummel A, Sesardic D, Singh BR, Stringer SC.

Historical Perspectives and Guidelines for Botulinum Neurotoxin Subtype Nomenclature.

Toxins (Basel). 2017 Jan 18;9(1)

- Le Maréchal C, Rouxel S, Ballan V, Houard E, Poëzevara T, Bayon-Auboyer MH, Souillard R, Morvan H, Baudouard MA, 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 Jan 11;12(1)

- Bernardor J, Neveu J, Haas H, Pitelet G, Popoff MR, Mazuet C, Bérard E, Boulay C, Chabrol B.

Infant botulism: Two case reports and electroneuromyogram findings.

Arch Pediatr. 2018 Jun 7

- Le Maréchal C, Hulin O, Macé S, Chuzeville C, Rouxel S, Poëzevara T, Mazuet C, Pozet F, Sellal E, Martin L, Viry A, Rubbens C, Chemaly M.

A Case Report of a Botulism Outbreak in Beef Cattle Due to the Contamination of Wheat by a Roaming Cat Carcass: From the Suspicion to the Management of the Outbreak.

Animals (Basel). 2019;9 (12):1025.

- D Chapeton-Montes, L Plourde, C Bouchier, L Ma, L Diancourt, A Criscuolo, MR Popoff, H Brüggemann

The population structure of *Clostridium tetani* deduced from its pan-genome

Sci Rep. 2019 Aug 2;9(1):11220. Erratum in Sci Rep. 2019 Nov 19;9(1):17409.

- F Aujoulat, MR Popoff, L Diancourt, A Criscuolo, H Jean-Pierre, E Jumas-Bilak, H Marchandin

Whole-Genome Sequences of a Cluster of 14 Unidentified Related *Veillonella* sp. Strains from Human Clinical Samples and Type Strains of 3 *Veillonella* Validated Species

Microbiol Resour Announc. 2019 Mar 21; 8(12)

- L Diancourt, J Sautereau, A Criscuolo, MR Popoff

Two *Clostridium perfringens* Type E Isolates in France

Toxins. 2019 Mar 1;11(3):138.

- Le Gratiot T, Poezevara T, Rouxel S, Houard E, Mazuet C, Chemaly M, Maréchal CL Development of An Innovative and Quick Method for the Isolation of *Clostridium botulinum* Strains Involved in Avian Botulism Outbreaks. Toxins (Basel). 2020;12(1):42.
- Kaeuffer, C.; Ruge, T.; Diancourt, L.; Romain, B.; Ruch, Y.; Jaulhac, B.; Boyer, P.H. First Case of Bacteraemia Due to Carbapenem-Resistant *Bacteroides faecis*. Antibiotics 2021, 10, 319.
- Woudstra C, Mäklin T, Derman Y, Bano L, Skarin H, Mazuet C, Honkela A, Lindström M Closing *Clostridium botulinum* Group III Genomes Using Long-Read Sequencing. Microbiol Resour Announc. 2021 Jun 3;10 (22)
- Aujoulat F, Mazuet C, Criscuolo A, Popoff MR, Enault C, Diancourt L, Jumas-Bilak E, Lavigne JP, Marchandin H *Peptoniphilus nemausensis* sp. nov. A new Gram-positive anaerobic coccus isolated from human clinical samples, an emendated description of the genus *Peptoniphilus* and an evaluation of the taxonomic status of *Peptoniphilus* species with not validly published names. Syst Appl Microbiol. 2021 Sep;44(5):126235. Review
- Mesa V, Monot M, Ferraris L, Popoff M, Mazuet C, Barbut F, Delannoy J, Dupuy B, Butel MJ, Aires J. Core-, pan- and accessory genome analyses of *Clostridium neonatale*: insights into genetic diversity. Microb Genom. 2022 May;8(5).
- Rossi M, Durrleman C, Hayat M, Roux CJ, Kossorotoff M, Gitiaux C, Mazuet C, Moulin F, Collignon C. Infant botulism: Report of a misleading case and important key messages. Arch Pediatr. 2022 May 26: S0929-693 X (22)00127-0

2.3. Chapitres de livre

- Brüggemann H., Wollher A., Mazuet C., Popoff M. R. *Clostridium botulinum*
In Genomes of Foodborne and Waterborne Pathogens. P. Fratamico, Y. Liu, and S. Kathariou (Eds), ASM Press, Washington DC, 2011, 185-212 and color plate 15, 16 and 17
- Popoff M. R., Mazuet C. *Clostridium botulinum, history, strain and neurotoxin diversity.*
In *Clostridium botulinum: a spore forming organism and a challenge to food safety* Christine Rasetti-Escargueil and Suzanne Surman-Lee (Eds), Nova Science Publishers, Inc. New York 2012, 1-36
- Popoff M., Mazuet C., Poulain B. *Botulism and Tetanus*
In: Rosenberg E. (Ed.) The Prokaryotes (4th edition) – Human Microbiology: SpringerReference (www.springerreference.com). Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2013

2.4. Congrès, workshops, conférences sur invitations

- Séminaires annuels du Réseau National des Laboratoires BIOTOX-PIRATOX

- Séminaires des CNR-LNR
- Séminaires des CNR
- Congrès annuels de la SFM
- H2020_KO Meeting EuroBioTox
RKI, Berlin, 18 au 20 juin 2017
C. Mazuet : Présentation du WP « Animal replacement methods »
- 6th Botulinum Toxin Kongress
Baden Baden, du 4 au 6 juin 2017
C. Mazuet (conférence sur invitation) : « Botulism in France: novel concepts of detection reveal novel BoNT subtypes »
- Journées « Botulisme animal »
C. Mazuet (conférence sur invitation) : « Le botulisme humain en France »
- H2020 Meeting ToxDetect
- Journée d'échanges MOT IP/ANSES
- Interagency Botulism Research Coordinating Committee (IBRCC) Meetings
- H2020 Meeting FED-AMR
- Workshop MedVetNet/AniBotNet « Public health risks associated with animal botulism »

2.5. Coopération avec les laboratoires de santé animale, hygiène alimentaire, environnementaux

Nous coopérons activement et efficacement avec le Laboratoire National de Référence (LNR) (ANSES Ploufragan) qui participe au diagnostic et à la surveillance du botulisme animal en France, et en particulier aviaire :

- 1) Pour valider/comparer/confirmer/affiner les diagnostics biologiques des foyers de botulisme animal, et en particulier pour les bovins pour lesquels la confirmation biologique du diagnostic est très souvent problématique. Il faut souligner ici la difficulté que nous rencontrons à échanger simplement, rapidement et à moindre coût des prélèvements, souches et ADN du fait de la réglementation MOT/ANSM.
- 2) Les données épidémiologiques du botulisme animal en France à partir des résultats d'analyses des 6 dernières années du LNR, de l'ONCFS, du GDS, de l'ANSES et du CNR ont été échangées et on fait l'objet de plusieurs communications. Cette mise en commun des données de surveillance des différents acteurs a été reprise et élargie dans le cadre d'une demande de la DGAL d'actualisation des connaissances du botulisme animal et des évaluations de risque pour la santé humaine et/ou animale.
- 3) Le CNR et le LNR coopèrent à l'investigation des foyers de botulisme bovin et aviaire, notamment des oiseaux sauvages en collaboration étroite avec l'ONCFS et le réseau SAGIR. En 2018 et 2019, l'ensemble des acteurs s'est fortement mobilisé autour du diagnostic simultané de 3 foyers de botulisme de type C/D et E dans la faune aviaire sauvage.
- 4) Christelle Mazuet fait partie du comité de thèse de l'étudiant de Caroline Le Maréchal (responsable du LNR) dont le sujet porte sur l'isolement et la caractérisation génétique des souches de *Clostridium botulinum* du groupe III.

Nous collaborons également régulièrement et plus facilement que par le passé avec l'unité SBCL (Staphylococcus, Bacillus & Clostridium) du laboratoire de sécurité des Aliments de l'ANSES-Maison Alfort :

- 1) Lors de l'investigation de TIAC à *Clostridium perfringens* et/ou *Bacillus cereus* pour confronter, comparer et analyser les souches isolées des aliments contaminés et celles isolées des prélèvements biologiques des victimes.
- 2) Dans le projet européen ToxDetect
- 3) Dans projet ANR ClostAbat (« Characterization of the *Clostridium perfringens* and *Clostridium difficile* hazards in the beef, pig and poultry sectors in slaughterhouses »).

LIVRE II

Laboratoire associé *Clostridioides difficile*



**BILAN DES ACTIVITÉS
SCIENTIFIQUES ET TECHNIQUES
2017-2021**

LABORATOIRE ASSOCIE
Clostridioides difficile

3. BILAN DES ACTIVITES SCIENTIFIQUES ET TECHNIQUES DU LABORATOIRE ASSOCIE *CLOSTRIDIODES DIFFICILE*

3.1. Activités au titre de l'expertise microbiologique

3.1.1. EVOLUTION DES TECHNIQUES 2017-2021

Techniques développées

Identification des PCR ribotypes par WebRibo

Après avoir mis au point la PCR ribotypage par électrophorèse capillaire sur le séquenceur ABI 3500, nous identifions automatiquement les PCR Ribotypes en téléchargeant les fichiers « fsa » des profils sur le site WebRibo (<https://webribo.ages.at>) (base de données comprenant plus de 300 ribotypes différents)

PCR multiplex

Pour caractériser les souches de *Clostridium difficile* reçues au laboratoire, plusieurs PCR sont mises en œuvre. Afin de gagner en rapidité, une PCR multiplex avec détection des fragments amplifiés sur gel a été mise au point. Cette PCR permet la détection simultanée de 7 cibles : *tcdA*, *tcdB*, *cdtA*, *cdtB*, *tcdC*, *tpi*, et un fragment de 115 pb spécifique des souches non toxigènes. Cette PCR multiplex a ensuite été adaptée sur séquenceur pour s'affranchir du Bromure d'Ethidium (BET) ; après amplification les fragments sont détectés par électrophorèse capillaire sur un ABI 3500. Cette technique est maintenant utilisée en routine au laboratoire.

MLVA (Multi Locus Variable-Number-Tandem-Repeat Analysis)

La technique du MLVA (Multi Locus Variable-Number-Tandem-Repeat Analysis), est une technique de typage discriminante qui permet de sous-typier des souches appartenant à un même PCR-ribotype comme le PCR-ribotype 027. Cette méthode a été mise au point au laboratoire avec analyse du nombre de répétitions à l'intérieur de 7 loci par séquençage ou par détection automatisée de la taille des fragments sur ABI 3500.

CgMLST et wgMLST; virulome, resistome

Les souches d'intérêt de *C. difficile* sont séquencées sur la Plateforme PibNet de l'Institut Pasteur. Les séquences (fichiers FASTQ) sont envoyées au Laboratoire. L'ensemble des analyses de wg-MLST et cgMLST ainsi que les contrôles de qualité du séquençage (profondeur et couverture) et de l'assemblage (nombre de contig, N50) sont effectués à l'aide du logiciel Bionumerics 7.6.3 (Applied Maths®). L'assemblage des reads se fait de novo en utilisant l'algorithme SPAdes. Les souches sont ensuite comparées soit à un pangénome de *C. difficile* présent dans la base de données et contenant 8 745 gènes identifiés à partir de 259 génomes de référence de *C. difficile* soit à un core génome (comprenant 1990 gènes).

Des arbres phylogénétiques ont ensuite été générés par la méthode du « Minimum Spanning Tree ». La distance génétique entre 2 souches est déterminée en calculant le nombre d'allèles ou de SNP de différence.

Les données obtenues par WGS sont également analysées grâce au logiciel EpiSeq™ (BioMérieux). Celui-ci fournit des informations précises sur les marqueurs génétiques de virulence et de résistance à partir de la base de données de BioMérieux.

Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse

Les trousse diagnostiques, tests et milieux évalués depuis 2016 sont décrits dans le tableau II.

Tableau II : trousse diagnostiques, tests et milieux évalués depuis 2017

Année	Laboratoire	Test évalué	Cible	Type de test
2016-2017	Monlab	C. difficile GDH-toxines A-B MonLabTest®	GDH, toxine A, toxine B	Test immuno-chromatographique
2017	BioMerieux	SIMOA	Toxines A et B (quantification)	Technique immunoenzymatique ultrasensible
2018	Abbot	Comparaison du QuickChek GDH et du Quick Chek complete	GDH	Test immuno-chromatographique
2020	Quidel	Solana	<i>tcdA</i>	d'amplification dépendant de l'hélicase
2020	Quidel	Sophia	GDH et toxines A et B	Immunofluorescence
2020	GenePOC	Revogene	<i>tcdB</i>	PCR
2021	Da Volterra	Impact du DAV 132 sur les techniques diagnostiques	Cepheid (<i>tcdB</i>) et Quick check Complete (Abbott)	PCR et Immunochromatographie

3.1.2. ACTIVITES D'EXPERTISE SUR *C. DIFFICILE*

En 2021, nous avons reçu 254 prélèvements contre 345 en 2020, ce qui représente une diminution de 26,37 %. Cette diminution est sans doute la conséquence de la pandémie de COVID-19 qui, d'une part, a entraîné une diminution de l'incidence des ICD (selon les données de la littérature) et d'autres part a mobilisé et réorienté les laboratoires vers d'autres activités prioritaires.

Le tableau III présente l'évolution du nombre de souches reçues par le laboratoire associé sur la période 2017-2021. Le laboratoire associé s'est donné pour objectif de restituer les résultats au laboratoire demandeur sous 10 jours ouvrés à partir de la date de réception de la souche isolée au laboratoire. En 2021, la durée médiane de restitution était de 11 jours : ce délai s'explique par la réception de plus en plus fréquente de selles et non de souches déjà isolées.

Tableau III : Evolution du nombre de prélèvements reçus pour caractérisation et nombre de souches de *C. difficile* depuis 2017.

	2017	2018	2019	2020	2021
Nb de prélèvements reçus	437	343	265	345	255
Nb de souches de <i>C. difficile</i>	410	332	252	316	240
Nb de souches toxigènes	387	319	244	262	226

3.1.3. ACTIVITES DE RECHERCHE DU LABORATOIRE ASSOCIE

Les principaux sujets de recherche et collaborations menés depuis 2017 sont les suivants :

1. Etude SERODIFF : réponse immunitaire vis-à-vis de *C. difficile*

Investigateur principal : M. Greder, Versailles, responsable scientifique A. Le Monnier, Paris. F. Barbut fait partie du comité de pilotage (Soutien financier : Sanofi Pasteur).

Ce projet multi-centrique (15 centres) a étudié la réponse immunitaire des patients dans les infections à *C. difficile* et le poids de cette immunité comme facteur de risque d'infection. Les inclusions ont été terminées en 2016 et les souches ont été caractérisées par notre laboratoire. L'année 2017 a été consacrée à l'interprétation des résultats et la rédaction du rapport d'étude.

2. Etude EVADE : évaluation *in situ* de l'activité sporicide de l'Anioxyfloor

Soutien financier : laboratoire Anios.

Cette étude a évalué, en conditions réelles d'utilisation, l'efficacité de l'Anioxyfloor pour la désinfection environnementale des chambres de patients infectés par *C. difficile* en comparaison à l'eau de Javel à 0,5% de chlore actif

COUTURIER J, SYED ZAIDI R, FOUQUET C, GATEAU C ECKERT C, BARBUT F

Comparaison de l'activité in situ de l'hypochlorite de sodium et d'un détergent-désinfectant vis-à-vis des spores de Clostridium difficile : résultats d'une étude prospective en cross-over.

Hygiènes, 2018 - Volume XXVI - n° 5, 185-192

3. PREMAFLORA : Caractérisation génotypique de souches de *C. difficile* isolées dans une population de prématurés

Cette étude, réalisée en collaboration avec l'équipe EA 4065 « Ecosystème intestinal, probiotiques et antibiotiques » (Pr M.J. Butel, Dr J. Aires, L. Ferraris) a permis d'estimer la fréquence et la cinétique de colonisation par *C. difficile* des prématurés et de caractériser les souches.

FERRARIS L, COUTURIER J, ECKERT C, DELANNOY J, BARBUT F, BUTEL MJ, AIRES J.

Carriage and colonization of C. difficile in preterm neonates: A longitudinal prospective study. PLoS One. 2019 Feb 20;14(2): e0212568. doi: 10.1371/journal.pone.0212568. eCollection 2019

4. Etude DAFNE : Observatoire de l'utilisation de la fidaxomicine en France

Soutien financier : laboratoire Astellas

L'objectif principal était de décrire les caractéristiques des patients traités par fidaxomicine et de préciser le nombre et le délai des récurrences au cours des 3 mois qui ont suivi la fin du traitement.

GUERY B, BERGER P, GAUZIT R, GOURDON M, BARBUT F

A prospective, observational study of fidaxomicin use for Clostridioides difficile infection in France Journal of International Medical Research, 2021 Jun; 49(6):3000605211021278.

5. Etude QALIFF : Qualité de vie des patients infectés par *C. difficile*.

Soutien financier : laboratoires MSD

Cette étude s'est intéressée au retentissement de l'infection à *C. difficile* sur la qualité de vie des patients en utilisant l'EQ5D et le questionnaire Cdiff 32.

BARBUT F, GALPERINE T, VANHEMS P, LE MONNIER A, JEANBAT V., DUBURCQ A, ALAMI S, BENSOUSSAN C, FAGNANI F

Quality of life and utility decrement associated with Clostridium difficile infection in a French hospital setting.

Health Qual Life Outcomes. 2019 Jan 11; 17(1):6.

6. Etude DCDiff : Surmortalité liée aux infections à *C. difficile*

Soutien financier : laboratoires MSD

Cette étude a comparé la mortalité des patients infectés par *C. difficile* à celle de patients témoins non infectés appariés sur un score de propension.

BARBUT F, BOUÉE S, LONGEPIERRE L, GOLDBERG M, BENSOUSSAN C, LEVY-BACHELOT L.

Excess mortality between 2007 and 2014 among patients with Clostridium difficile infection: a French Health Insurance Database analysis.

J Hosp Infect. 2018 Jan; 98(1):21-28

7. Microbiological support to European surveillance of *Clostridium difficile* infections (2016-2018)

Soutien financier : ECDC

Ce projet a été organisé sous l'égide de l'Université de Leiden (E. Kuijper) et a impliqué un consortium de 4 laboratoires de référence (Royaume-Uni, Autriche, Pays-Bas et France). Il a été financé par l'ECDC.

Les objectifs de ce projet étaient d'améliorer les stratégies de diagnostic des infections à *C. difficile* des laboratoires des Etats Membres, ainsi que leurs capacités à typer les souches de *C. difficile*. Notre laboratoire est intervenu dans 2 workpackages (Work package 1: Increase of CDI diagnostics and PCR ribotyping by train-the-trainer activities in EU/EEA Member States, and WP4: « Monitor and maximise the effectiveness of train-the-trainer activities »).

Réunion ECDC du 22 mai 2019 et participation à l'ESCMID Summer school du 3 juillet 2018 (Barbut F., *Clostridium difficile* infections : current threats)

8- Détermination des CMI d'inhibiteurs de proline racemase vis-à-vis d'un panel de souches de *C. difficile* et détermination du support génétique de la résistance.

Cette étude a été réalisée en collaboration avec Paola Minoprio (Institut Pasteur) et Philippe Uriac (Université de Rennes). Elle a visé à déterminer les concentrations minimales inhibitrices de différents inhibiteurs de proline racemase vis-à-vis d'un panel de souches de *C. difficile* par la méthode de dilution en milieu gélosé. Le support de la résistance a été étudié par séquençage des gènes de la proline racemase. L'activité des composés les plus actifs a été étudiée sur le modèle de colite à *C. difficile* du hamster prétraité par clindamycine.

GATEAU C, MELO GD, URIAC P, TASSEAU O, RENAULT J, BLONDEL A, GOUAULT N, BARBUT F, MINOPRIO P. Irreversible inhibitors of the proline racemase unveil innovative mechanism of action as antibacterial agents against *Clostridioides difficile*.

Chem Biol Drug Des. 2021 Dec 17. doi: 10.1111/cbdd.14005. Online ahead of print. PMID : 3491845

9- Etude COMBACTE-CDI

Cette étude a été financée par le programme Innovative Medicines Initiative (European Union Seventh Framework Programme (FP7/2007-2013))

COMBACTE CDI -CDI (Combating Bacterial Resistance in Europe- *Clostridium difficile* infections) était une étude multicentrique européenne non interventionnelle dont les objectifs étaient de connaître le poids des infections à *C. difficile* en Europe, leurs facteurs de risque, les modalités de traitement et l'évolution clinique des patients infectés, et les méthodes et stratégies diagnostiques utilisées au laboratoire. Le laboratoire *Clostridioides difficile* associé au CNR des anaérobies a été chargé de mettre en place et de coordonner cette étude en France.

VIPREY VF, DAVIS G, BENSON A., EWIN D., SPITTAL W., VERNON J, RUPNIK M., BANZ A. , ALLANTAZ F, CLEUZIAT P, THE **COMBACTE-CDI NATIONAL COORDINATORS**, WILCOX M., DAVIES K, on behalf of the COMBACTE-CDI consortium

Key differences in diagnosis and patient populations between community and inpatient *Clostridioides difficile* infections (CDI): results from Combating Bacterial Resistance in Europe CDI (COMBACTE-CDI), 2018.

Eurosurveillance, 2022, sous presse

10- Etude DIFALIBO

Projet réalisé en collaboration avec l'Unité SBCL, département des contaminants microbiologiques, Laboratoire de sécurité des aliments (ANSES, Dr Olivier Firmesse) et l'Unité HQPAP, laboratoire de Ploufragan-Plouzané (ANSES, Dr Caroline LeMaréchal)

L'objectif de ce projet était de mener une étude préliminaire afin d'évaluer la contamination par *C. difficile* d'aliments impliqués dans des toxi-infections alimentaires et d'obtenir des premiers éléments sur la prévalence de *C. difficile* dans le contenu intestinal de bovins.

11- Etude DiaBoClo : Caractérisation de souches de *C. botulinum* et *C. difficile* au cours de la digestion anaérobie mésophile d'effluents d'élevages bovins.

Projet réalisé en collaboration, avec le Dr Le Maréchal, ANSES Laboratoire de Ploufragan :

La méthanisation à la ferme est en plein essor en Europe et notamment en France. Ce procédé de digestion anaérobie permet de valoriser les effluents d'élevage via la production de biogaz, valorisable sous forme d'énergie. Le digestat issu de la méthanisation est utilisé comme fertilisant des terres agricoles.

Le projet DiaBoClo avait pour objectifs de :

- i) déterminer la prévalence de *C. botulinum* et *C. difficile* dans la filière bovine via l'analyse de contenus intestinaux de bovins,
- ii) de déterminer les caractéristiques des souches de *C. botulinum* et *C. difficile* isolées à partir des intrants et digestats de méthaniseur à la ferme de la filière bovine,
- iii) de comparer les souches isolées de la filière bovine, des méthaniseurs alimentés en effluents bovins et des souches impliquées dans les cas cliniques humains

Le projet DiaBoClo a permis de connaître les caractéristiques (sensibilité aux antibiotiques, typage des souches via l'utilisation de méthodes de référence et du séquençage des génomes d'une sélection de souches) des souches de *C. botulinum* et de *C. difficile* qui circulent dans la filière bovine

et qui sont susceptibles d'être disséminées dans l'environnement lors de l'épandage des fumiers ou des digestats de méthanisation.

LE MARÉCHAL C, GATEAU C, POEZEVARA T, COUTURIER J, ROUXEL S, ZYED-SAIDI R, HOUARD E, POURCHER AM, DENIS M, BARBUT F.

Characterization of Clostridioides difficile strains isolated from manure and digestate in five agricultural biogas plants.

Anaerobe. 2020 Apr;62:102180. doi: 10.1016/j.anaerobe.2020.102180. Epub 2020 Feb 21. PMID: 32092414,

DERONGS L, DRUILHE C, LE MARÉCHAL CA, BARBUT F, HEURTEVENT L, BUFFET J, MARTIN L, ZIEBAL C, POEZEVARA T, ROUXEL S, HOUARD E, POURCHER AM

Influence of operating conditions on the persistence of indicator bacteria and of two pathogenic clostridia in semi-continuous mesophilic anaerobic reactors

Waste management, 2021 Nov;135:275. doi: 10.1016/j.wasman.2021.09.001. Epub 2021 Sep 21.

12- Clostridium difficile chez les enfants prématurés : relations avec le microbiote intestinal.

Projet mené en collaboration avec l'INSERM 1139 (Pr T. Fournier).

Ce projet a comparé par métagénomique ciblée sur le gène codant l'ARNr 16S le microbiote intestinal d'enfants prématurés infectés ou non par *C. difficile* afin d'identifier des signatures bactériologiques associées à la présence ou à l'absence de colonisation ou des profils prédictifs de la colonisation (grâce au suivi longitudinal).

COUTURIER J, LEPAGE P, JOLIVET S, ANCEL PY, BUTEL MJ, AIRES J, BARBUT F.

Gut microbiota diversity of preterm neonates is associated with Clostridioides difficile colonization.

Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2022, article soumis.

13- CoNOTOX (Etude des propriétés de souches non toxigènes de Clostridium difficile

Projet mené en collaboration avec l'INSERM 1139 (Pr T. Fournier).

L'objectif était d'évaluer le potentiel de 2 souches non toxigènes (NTCD FR082 et 032) à prévenir le développement des ICD *in vivo* en modèle animal de hamster prétraité par clindamycine et infecté par la souche épidémique 027. Un brevet européen a été déposé.

COUTURIER J, FRANCONERI L, JANOIR C, FERRARIS L, SYED ZAIDI R, YOUSSEF A., GATEAU C, HOYS S, AIRES J, BARBUT F

Characterization of non toxigenic strains of C. difficile isolated from preterm neonates and in vivo study of their protective effect.

Journal of Clinical Medicine, 2020 Nov 13;9(11):3650. doi: 10.3390/jcm9113650

14- Evaluation de la dissémination environnementale de C. difficile à partir des toilettes

Cette étude expérimentale a évalué la dissémination de *C. difficile* sur les surfaces et dans l'air à partir de toilettes expérimentalement contaminées.

COUTURIER J, RABATE M, NESA D, ADAM M, PRAT L, JOLIVET S, BARBUT F

Évaluation de la dissémination des bactéries à partir des toilettes : résultats d'une étude expérimentale.

Hygiènes 2022, 1,1-5

15-Effet du rayonnement UV-C généré par des lampes au xénon sur les spores de *C. difficile* et les BHRe

Cette étude a évalué, par la méthode des porte-germes, l'activité bactéricide du dispositif Xenex® (ABmedica®), générant un rayonnement UV-C pulsé produit par une lampe au xénon (PX-UV-C), sur 2 souches de BHRe et sur les spores de *C. difficile*.

LE NEINDRE K., DESLANDES A, SYED ZAIDI R, DUFRESNE M., BARBUT F.

Evaluation de l'efficacité du rayonnement UV-C sur les BHRe et Clostridioides difficile

41ème RICA (live) 13-14 décembre 2021. Communication orale

16- Apport du whole genome sequencing (WGS) dans la compréhension de l'épidémiologie des infections à *Clostridium difficile*.

Cette étude rétrospective a été menée dans un hôpital universitaire de 680 lits entre janvier 2016 et février 2017. Au total, 191 souches isolées de 169 patients symptomatiques infectés par *C. difficile* (ICD) ont été analysées par WGS. Les séquences ont été comparées par wgMLST et cgSNP. Les données génétiques ont été combinées aux données épidémiologiques (date d'entrée et de sortie du patient, transfert entre services, etc..) afin d'identifier le taux de transmission et le type de transmission.

COURBIN V., COUTURIER J, GATEAU C., SYED ZAIDI R., YOUSOUF A., BARBUT F.

Transmission patterns of Clostridioides difficile in a non-epidemic setting based on WGS analysis.

Journal of infection 2022, soumis

17-Discrimination des souches de *Clostridioides difficile* par MALDI-TOF MS

Cette étude est actuellement menée en collaboration avec Alexandre Godmer (Service de Microbiologie, hôpital saint Antoine, Pr N. Veziris). Elle vise à (i) identifier les souches productrices de toxine binaire et (ii) à identifier les clones hypervirulents (clones 027 et apparentés) au sein de ces souches par spectrométrie de masse (MS) de type MALDI-TOF à l'aide du machine learning.

GODMER A, LE NEINDRE K, LATAPY V, BASTIDE M, YOUSOUF A, SYED ZAIDI R, AUBRY A, VEZIRIS1, N, BARBUT F, ECKERT C.

Discrimination des souches de Clostridioides difficile par MALDI-TOF MS

RICA, Paris, décembre 2021 communication affichée.

ECCMID 2022, 21-24 avril 2022, Lisbonne. Poster

18-Prévalence et facteurs de risque du portage asymptomatique toxigène de *Clostridioides difficile*

Etude ancillaire du PHRC CODBAHRE (Dr N. Kassis-Chikani)

Cette étude multicentrique de prévalence a estimé le portage asymptomatique de CD toxigène et les facteurs de risque associés chez les patients > 3 ans.

JOLIVET S, COUTURIER J, GROHS P, et al.

Prévalence et facteurs de risque du portage asymptomatique toxigène de Clostridioides difficile chez l'adulte dans onze hôpitaux français

ECCMID 2022, 21-24 avril 2022, Lisbonne. Poster

3.2. Conseil aux professionnels ou aux autorités de santé

3.2.1. ENSEIGNEMENTS REALISES

F. Barbut et J. Couturier interviennent dans les enseignements listés ci-dessous (cours en rapport avec *C. difficile*) :

- **Master 1**, UE de Microbiologie, M1 Santé, DCEM1 (Paris VI)
- **Master 2 IMVI**, Spécialité Microbiologie, Module épidémiologie (ex Paris V, VI, VII)
- **DIU** de pathologie infectieuse (ex Paris V, VI)
- **DIU** Stratégies thérapeutiques et préventives en pathologies infectieuses (ex Paris V, VI)
- **DIU** « hygiène hospitalière et prévention des infections nosocomiales » (ex Paris V, VI, VII)
- **DU** « Hygiène Hospitalière, Prévention et Lutte contre les Infections Nosocomiales » (Université de Picardie Jules Verne)
- **DU** « Techniques de biologie moléculaire applicables au diagnostic médical » (Paris VI)
- **DU** Réanimation en Pathologie Infectieuse (DURPI) Bichat Claude Bernard
- **DU** « Antibiotique et Antibiothérapie » Saint-Louis (ex Paris V)
- **DES**, UE relation hôte-microorganismes au sein de l'écosystème intestinal (Faculté de Pharmacie, ex Paris V)
- **DU Microbiote et santé** (Pr K. Clément), Sorbonne Université
- **DU Thérapeutiques et Microbiote (Pr M. Cornet)**, Université de Grenoble

3.2.2. FORMATIONS AUX PROFESSIONNELS DE SANTE

Les formations réalisées auprès des professionnels de santé depuis 2017 sont listées dans le tableau V.

Tableau V : formations aux professionnels de santé depuis 2017

Cadre de l'enseignement	Discipline concernée	Public concerné	Type d'enseignement (Nb d'heures)	Date
Hôpital Clermont Ferrand Microbiologie (Pr Forestier)	Microbiologie	Médecins, chercheurs	Staff recherche (1h30)	17/02/2022
Saint antoine MIT (Pr Lacombe)	Infectiologie	Médecins	Staff de service (1h)	02/02/2022
Saint Antoine Service de Gastroentérologie (Pr Beaugerie)	Gastroentérologie	Médecins	Staff de service (1h)	11/02/2022
Hôpital de Montreuil Réanimation (Dr Dias)	Réanimation médicale, Gastroentérologie, Infectiologues	Médecins	Staff de service (1h)	30/06/2021
Hôpital HEGP Médecine interne (Pr Pouchot)	Médecine interne	Médecins	Staff de service (1h)	27/11/2020
Hop. Saint Antoine MIT (Pr K. Lacombe)	Infectiologie	Médecins	Staff de service (1h)	25/03/2019

Hôp. Saint Antoine Staff de service UPAC (Dr Joly)	Pharmacie	Pharmacien , préparateur	Staff de service (1h)	17/09/2019
Hôp. Pitié- Salpêtrière Réanimation (Pr Similowsky)	Réanimation	Médecins	Staff de service (1h)	21/10/2019
Hôpital Tenon Réanimation médicale (Pr Farhoukh)	Réanimation	Médecins	Staff de service (1h)	2018
Hôp. Saint Antoine, Réanimation médicale (Pr B. Guidet) Maladies infectieuses (Pr PM Girard)	Réanimation Infectiologie	Médecins	Staff de service (1h)	2018
Mérieux Université	Microbiologie (bactéries anaérobies)	Biologistes et techniciens de laboratoires	3 jours	2018-2019- 2020- 2021 1 session/an
Staff de service, Hôp. Avicennes, Maladies infectieuses (Pr O. Bouchaud)	Maladies infectieuses	Médecins	Staff de service	1h00-2017
Cadre de l'enseignement	Discipline concernée	Public concerné	Type d'enseignement (Nb d'heures)	Date
Staffs de service, Hôp. Saint antoine, Réanimation médicale (Pr B. Guidet) Maladies infectieuses (Pr PM Girard)	Réanimation Maladies infectieuses	Médecins	Staff de service	1h00-2017
Journées Alain Feuillu	Biologie	Biologistes	OGDPC	2017
Bioformation	Microbiologie (Anaérobies)	Biologistes et techniciens de laboratoires	3 jours	2018-2019
Bioformation	Microbiologie (Pratiques quotidiennes en microbiologie)	Biologistes et techniciens de laboratoires	2 jours	2018-2021

Invitations à des congrès nationaux ou internationaux

Conférences nationales

BARBUT F.,
Actualités dans le diagnostic des ICD

Symposium « Prise en charge des infections à *Clostridium difficile* : du nouveau pour faire barrage aux récurrences »

18èmes Journées Nationales d'Infectiologie
Saint-Malo, 21-23 juin 2017

BARBUT F.,

Poids de l'infection en France et dans le monde

Symposium « Nouveaux enjeux dans la prise en charge de l'ICD »

18èmes Journées Nationales d'Infectiologie
Saint-Malo, 21-23 juin 2017.

BARBUT F.

Place de la transplantation de microbiote fécal (FMT) dans les infections à *Clostridium difficile*

Journées Alain Feuillu

Saint-Malo, 4 mars 2017

BARBUT F.

Actualités sur *Clostridium difficile*

XIIIème journées de Microbiologie clinique

Paris, 14 septembre 2017

BARBUT F.

Transplantation de microbiote fécal (FMT) dans les infections à *Clostridium difficile*

Congrès de la société française de microbiologie

Paris, 9-11 octobre 2017.

BARBUT F.

Poids de l'infection à *C. difficile* à travers le monde

19ème journée régionale d'hygiène hospitalière

Clermont Ferrand, 13 octobre 2017

BARBUT F.

Diagnostic, prévention et traitement de l'infection à *C. difficile*

19ème journée régionale d'hygiène hospitalière

Clermont Ferrand, 13 octobre 2017

BARBUT F.

Epidémiologie et diagnostic des infections à *Clostridium difficile*

Journées d'échanges des réseaux ATB et BMR sud est

CePIAS auvergne Rhine Alpes,

Lyon, 10 novembre 2017

BARBUT F.

Infections à *C. difficile* et immunodépression

16ème journée du Groupe Transplantation et Infection

Paris, 18 mai 2018

BARBUT F.

Récurrences d'infections à *C. difficile* : peut-on les prévenir ?

Colloque « Prévenir le risque infectieux chez l'immunodéprimé »

Lyon, 28 mars 2018

BARBUT F.

Clostridium difficile : nouveautés épidémiologiques et diagnostiques

39^{ème} Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie anti infectieuse,

Paris 16-17 décembre 2019.

BARBUT F.

Mise en Place de la Transplantation de Microbiote Fécal (TMF): aspects pratiques
30^{ème} Congrès de la Société Française d'Hygiène Hospitalière
Strasbourg , 5-7 juin 2019

BARBUT F.

Actualités sur les infections à *C. difficile*
3^{ème} journée de Biologie médicale
Monaco, 6-8 novembre 2019

BARBUT F.

Actualités sur les infections à *Clostridioides difficile* (ICD)
Journée du collBVH
Paris, 21 juin 2019

BARBUT F.

Les différents aspects des infections à *Clostridioides difficile* (ICD)
Journée d'actualités physiopathologiques de Strasbourg
Strasbourg, 6 décembre 2019

BARBUT F.

Colites à *C. difficile*
Réanimation 2021.
Paris, 9 juin 2021.

Conférences internationales

BARBUT F.

Clinical and Economic Consequences of Recurrent CDI
25th UEG (United European Gastroenterology)
Barcelone (Espagne), 29 octobre -2 novembre 2017

BARBUT F.

Clostridium difficile: current threats
ESCMID summer school 2018, Paris
3 juillet 2018

BARBUT F.

Clostridium difficile : updates
Cepheid Championship Club, Chypre
20 octobre 2018

BARBUT F.

Diagnosis of *Clostridioides difficile* infection
La gestione terapeutica dell'infezione da *C. difficile*
Rome, Italie 17 juillet 2019

BARBUT F.

Pitfalls in *Clostridioides difficile* diagnosis
European Centers for Disease Control and Prevention meeting
Stockolm, Suède 22-23 may 2019

BARBUT F.

Clostridioides difficile infections: how to diagnose? How to treat ?

Joint meeting of the SSI and SSHH
Geneva, 2-4 septembre 2020.

BARBUT F.
31th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.
Prospective evaluation of combined antigen testing for *Clostridioides difficile* GDH and toxin
Vienne (Autriche), 9-12 juillet 2021 Online

BARBUT F.
Clostridioides difficile biological diagnosis : an update
IIIrd International Latin American *Clostridioides difficile* symposium
Bresil (visioconférence), 4 Octobre 2021

3.2.3. STAGIAIRES ACCUEILLIS

Les stagiaires accueillis depuis 2017 au laboratoire associé sont recensés dans le tableau VI.

Tableau VI : liste des stagiaires accueillis depuis 2017

Organisme Nom de l'Etudiant	Diplôme / Sujet	Année
Anais Lemaire Thèse d'Université en co tutelle	Doctorat de sciences <i>Clostridioides difficile</i> chez les Equidés : rôle du portage asymptomatique et des biofilms dans la persistance des infections et le potentiel zoonotique	2021-2022
Killian Le Neindre DU « création, analyse et valorisation de données omiques »	Mémoire de DU : projet ColoDIFF	2021-2022
Rabab Zyed Saidi École pratique des hautes études Sciences de la Vie et de la Terre Certificat de capacité à la recherche	Mémoire d'EPHE Apport du Whole Genome Sequencing (WGS) dans la compréhension de l'épidémiologie des infections à <i>Clostridioides difficile</i>	2021-2022
Organisme Nom de l'Etudiant	Diplôme / Sujet	Année
Jeanne Couturier Université de Paris	Doctorat de sciences <i>Clostridium difficile</i> chez les enfants prématurés : dynamique de colonisation, caractérisation des souches et relations avec le microbiote intestinal ») (encadrement 50% avec Julio Aires)	Défendue en 2020
Rabab Zyed Saidi Université de Paris	Projet tutoré L3 Comparaison de 3 méthodes immunoenzymatiques et immunochromatographiques détectant la GDH et les toxines A et B de <i>C. difficile</i>	2019-2020
Rabab Zyed Saidi Université de Paris	Projet tutoré L3 Evaluation in vitro d'un système de désinfection par rayonnement UV-C généré par une lampe au Xenon : mesure de l'activité vis-à-vis de 3 pathogènes nosocomiaux : <i>C. difficile</i> , <i>Citrobacter freundii</i> producteur de carbapénémase, et <i>E. faecium</i> résistant aux glycopeptides	2019-2020
Virginie Courbin Université Paris Descartes	Master 2 Microbiologie	

	Apport du whole genome sequencing (WGS) dans la compréhension de l'épidémiologie des infections à <i>Clostridioides difficile</i>	2020
Julianne Sedeno, BTS Bioanalyse et contrôle, Ecole Nationale de chimie physique et biologie de Paris (ENCPB)	Mémoire	2019
Alice Freton, Projet personnel de recherche (5 ^{ème} année de pharmacie DFASP2 - Filière PHBMR)	Mémoire	2018
Auguste Wolfrom, PIR Microbiologie, Faculté de Pharmacie de Paris, Paris Descartes	Mémoire	2018
Dr IC Djuikoue Doctorante	Stagiaire camerounaise DJUIKOUÉ, IC et BARBUT F. Evaluation of inpatients <i>Clostridium difficile</i> prevalence and risk factors in Cameroon. Infect Dis Poverty. 2020 Aug 31;9(1):122. doi: 10.1186/s40249-020-00738-8.	2018
Y Boudjela Doctorant	Stagiaire algérien BOUJELAL et BARBUT F. Molecular epidemiology and antimicrobial resistance patterns of <i>Clostridioides difficile</i> isolates in Algerian hospitals. Journal of Infection in Developing Countries, 2022 sous presse	2018
Valère Husset BTS Biotechnologie, Ecole Technique Supérieure du Laboratoire (ETSL)	Mémoire	2017

3.2.4. LISTE DES GUIDES ELABORES

Chapitres

BARBUT F., GATEAU C , COUTURIER J

Critères d'évaluation des marqueurs épidémiologiques en bactériologie.
In « Traité EMC Biologie médicale » 2019.

KUIJPER E., **BARBUT F.**

« *Clostridium* »

In « Manual of Clinical Microbiology », 12th edition, ASM press , 2019

BARBUT F., BEAUGERIE L., ECKERT C.

Clostridium difficile et pathologie digestive.

In « Traité EMC Maladies infectieuses » , 2020.

BARBUT F., MEYNARD JL, MAURY E, SURGERS L, et ECKERT C.

Infections digestives à *Clostridium difficile*.

In «Les essentiels en réanimation et médecine intensive »
Offenstadt, Bollaert, CEMIR (Collège des Enseignants en Médecine Intensive et Réanimation), 2020, chapitre 227, Editions Elsevier-Masson.

BARBUT F., LALANDE V., ECKERT C.

Clostridium difficile.

In « REMIC » (Référentiel en microbiologie médicale)
6^{ème} édition, 2022.

KUIJPER E., REUSBAET F., **BARBUT F.**

Clostridium, Clostridioides and other clostridia

In « Manual of Clinical Microbiology », 13th edition, ASM press, 2022

Publications didactiques, revues

GUERY B, **BARBUT F.**, TSCHUDIN-SUTTER S.

Diagnostic and therapy of severe *Clostridioides difficile* infections in the ICU.
Curr Opin Crit Care. 2020 Oct; 26(5):450-458.

GUERY B, GALPERINE T, **BARBUT F.**

Clostridioides difficile: diagnosis and treatments.

BMJ. 2019 Aug 20;366:l4609. doi: 10.1136/bmj.l4609. Review.

Recommandations européennes

- Participation à la rédaction de la réactualisation des « recommandations européennes pour le diagnostic des infections à *C. difficile* » sous l'égide du European Study Group on *C. difficile* (ESGCD)

CROBACH M., and **collaborator, on behalf of the ECDIS Study Group** European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (2016) Update of the diagnostic guidance document for *Clostridium difficile* infection. Clin Microbiol Infect. 2016 Aug;22 Suppl 4:S63-81.

- Participation à la rédaction de la réactualisation des « recommandations européennes sur la prévention de la transmission croisée des infections à *C. difficile* » sous l'égide du European Study Group on *C. difficile* (ESGCD)

TSCHUDIN-SUTTER S, KUIJPER E, DUROVIC A, VEHRCHILD M, BARBUT F, ECKERT C, FITZPATRICK F, HELL M, NORÉN T, O'DRISCOLL J, COIA J, GASTMEIER P, VON MÜLLER L, WILCOX M., WIDMER A, on behalf of the Committee*

Guidance document for prevention of *Clostridium difficile* infection in acute healthcare settings

Clin Microbiol Infect. 2018 Oct;24(10):1051-1054.

3.2.5. DIFFUSIONS AUX PROFESSIONNELS DE SANTE

Les demandes de renseignements ou de conseils se font directement par téléphone ou e-mail auprès des responsables du CNR.

- Site web du CNR : <http://www.pasteur.fr/fr/sante/centres-nationaux-reference/les-cnr/bacteries-anaerobies-et-botulisme>
Le site web du CNR des bactéries anaérobies et du botulisme et de son laboratoire associé est hébergé par la société Epiconcept
- Dossier thématique de Santé Publique France :
<https://www.santepubliquefrance.fr/docs/actualites-sur-les-infections-a-clostridium-difficile>
- Collaboration avec le CPias ile de France à rédaction d'une plaquette d'information destinée au patient
(https://cpias-ile-de-france.fr/docprocom/doc/PlaquetteCID_2014.pdf)
- Fiche EFFICATT . « Clostridium difficile » INRS 2018
- **Webinar SFM – REMIC : Clostridioides difficile**
Diagnostic biologique : aspects pratiques et pièges
7/10/2021
- **Webinar ESGCD- ECCMID**
Infection prevention and control of *Clostridioides difficile* using WGS
30 march 2022
- **Video « Hemato’K »** Diarrhée chez le patient d’hématologie, plateau promotionnel- Astellas 2020
- **Video « prévention santé »**, émission réalisée par Edimark (Février 2021) : Covid-19, prévention de la dissémination des bactéries multirésistantes aux antibiotiques et actualités sur les infections à *C. difficile*

3.2.6. ACTIVITES D’INFORMATION, DE FORMATION ET DE CONSEIL

Le laboratoire « *C. difficile* » associé au CNR des Bactéries anaérobies a mis à disposition des numéros de téléphone (01 49 28 30 11) et des adresses email (frederic.barbut@aphp.fr) afin de répondre aux demandes de conseils (traitement, diagnostic, prévention). Bien que le nombre d'appels ne soit pas formellement enregistré, on peut estimer leur fréquence à un minimum de 1 appel par jour ouvrable.

F. Barbut a participé à **l’ESCMID summer school 2018**
Clostridium difficile : current threats, Paris, 3 juillet 2018

3.2.7. ACTIVITES D’EXPERTISE

Le dossier thématique concernant les infections à *C. difficile* sur le site de Santé Publique France est régulièrement réactualisé

F. Barbut est membre du groupe français sur la transplantation fécale (**GFTF**) présidé par H. Sokol et fait partie de la commission scientifique. Ce groupe a rédigé des recommandations pour la pratique de la transplantation de microbiote fécal dans le cadre des infections récidivantes à *C. difficile*.

F. Barbut a participé aux groupes de travail sur la transplantation fécale pilotés par l’ANSM d’une part et par l’Académie de Pharmacie d’autre part. Les réunions ont abouti à des recommandations officielles de l’Académie.

F. Barbut a travaillé avec la Caisse Nationale d'Assurance Maladie pour la révision de la NABM pour le diagnostic des infections à *C. difficile* toxinogène (2019, acte 1033)

3.3. Contribution à la surveillance épidémiologique

3.3.1. SURVEILLANCE DES INFECTIONS A *C. DIFFICILE*

Réseau de partenaires

Le laboratoire « *Clostridioides difficile* » associé au CNR des bactéries Anaérobies et du botulisme (Institut Pasteur, Paris), assure une veille épidémiologique des infections à *C. difficile*.

Définition de l'échantillon de souches isolées

Le laboratoire associé assure le typage des souches de *C. difficile* isolées des cas d'infections qui ont fait l'objet d'un **signalement** aux autorités sanitaires. Les cas signalés correspondent soit à des formes sévères d'infections (*cf* définitions de la sévérité dans le guide « Conduite à tenir : diagnostic, investigation, surveillance et principes de prévention et de maîtrise des infections à *Clostridium difficile* » InVS 2006) soit à des cas groupés (épidémies). Le tableau VII montre pour tous les prélèvements reçus les motifs d'envoi (ces critères ne sont pas exclusifs).

Deux éléments sont à noter au cours des dernières années :

- De plus en plus de laboratoires envoient des souches de *C. difficile* pour confirmation du PCR-ribotype 027 lorsque le test GenExpert a rendu une identification présomptive 027. Ces envois permettent également de surveiller la diffusion de la souche 027 épidémique en France.
- De plus en plus de laboratoires ont abandonné la culture et nous envoient des selles pour pouvoir isoler et caractériser les souches

Tableau VII : Motifs d'envoi des souches de *C. difficile*

	2017 (437 prélèvements)			2018 (343 prélèvements)			2019 (265 prélèvements)			2020 (345 prélèvements)			2021 (254 prélèvements)		
Motifs d'envoi (non exclusif)	oui	non	NR	oui	non	NR	oui	non	NR	oui	non	NR	oui	non	NR
Infection communautaire motivant l'hospitalisation	49	238	150	51	186	106	36	134	95	27	112	206	32	95	127
Transfert en réanimation pour infection à <i>C. difficile</i>	11	283	143	9	226	108	27	174	84	1	48	196	7	138	109
Décès lié à l'infection à <i>C. difficile</i> dans les 30 jours	8	258	271	5	227	11	2	176	87	1	141	203	1	135	118
Hyperleucocytose >20 000/mm ³	75	202	160	36	200	107	30	142	93	24	111	210	26	92	136
Traitement chirurgical de l'infection à <i>C. difficile</i>	4	257	176	3	209	131	0	158	107	1	129	215	1	118	135
Epidémie ou cas groupés	210	147	80	149	122	72	82	107	76	74	90	181	77	89	88

	2017 (437 prélèvements)			2018 (343 prélèvements)			2019 (265 prélèvements)			2020 (345 prélèvements)			2021 (254 prélèvements)		
Motifs d'envoi (non exclusif) d'infections à <i>C. difficile</i>	oui	non	NR	oui	non	NR	oui	non	NR	oui	non	NR	oui	non	NR

NR : non renseignés

La suspicion d'épidémies ou de cas groupés constitue le motif le plus fréquent d'envoi des souches au laboratoire expert pour typage en 2021.

La répartition des prélèvements envoyés selon l'origine géographique est représentée sur la figure 1.

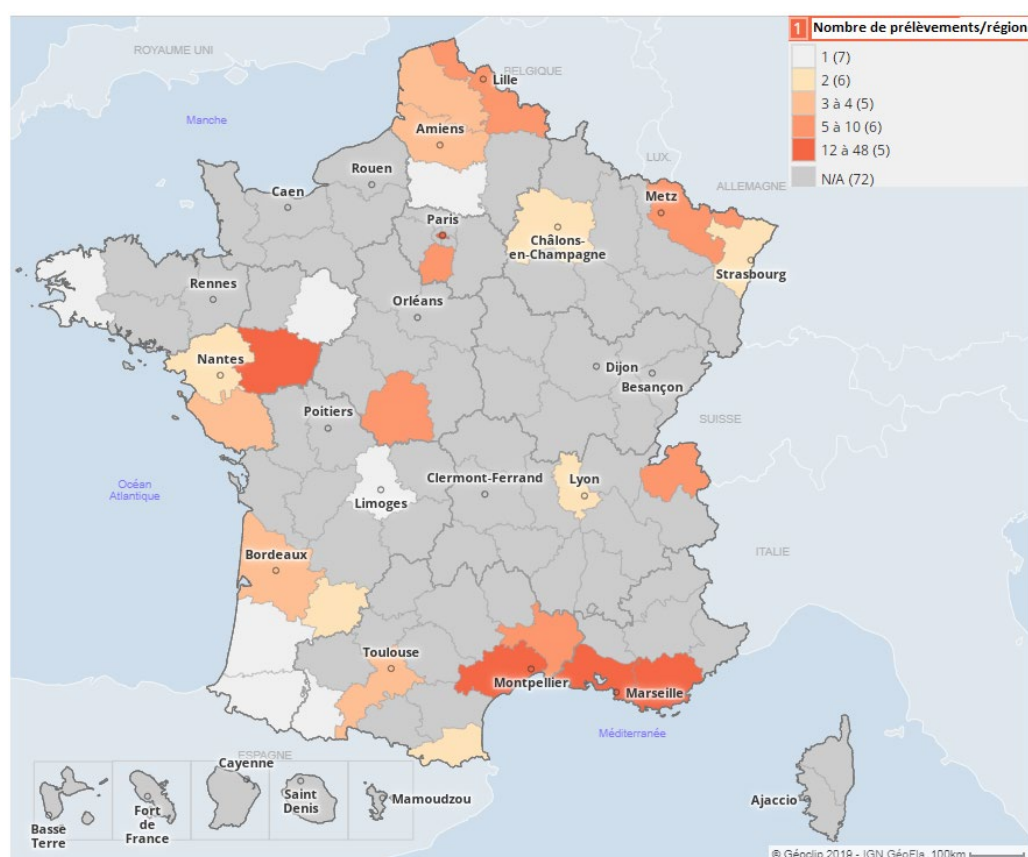


Figure 1 : Répartition des prélèvements (n=254) envoyés par département, en 2021

A noter : les départements en gris n'ont pas envoyé de prélèvement.

Analyse de la distribution des souches de *C. difficile* en fonction des critères pertinents et analyse des tendances

En 2021, les souches de *C. difficile* toxigènes provenaient principalement de selles (97,78%). Cent vingt-six souches (**126/226 soit 55,75%**) de *C. difficile* toxigènes ont été isolées chez des femmes et cent (**100/226 soit 44,25%**) chez les hommes. On note que **68,14% (154/226) des patients ont plus de 65 ans** (versus 65,3% en 2019). La distribution par tranche d'âge des patients chez qui ces souches toxigènes ont été isolées est représentée sur la figure suivante

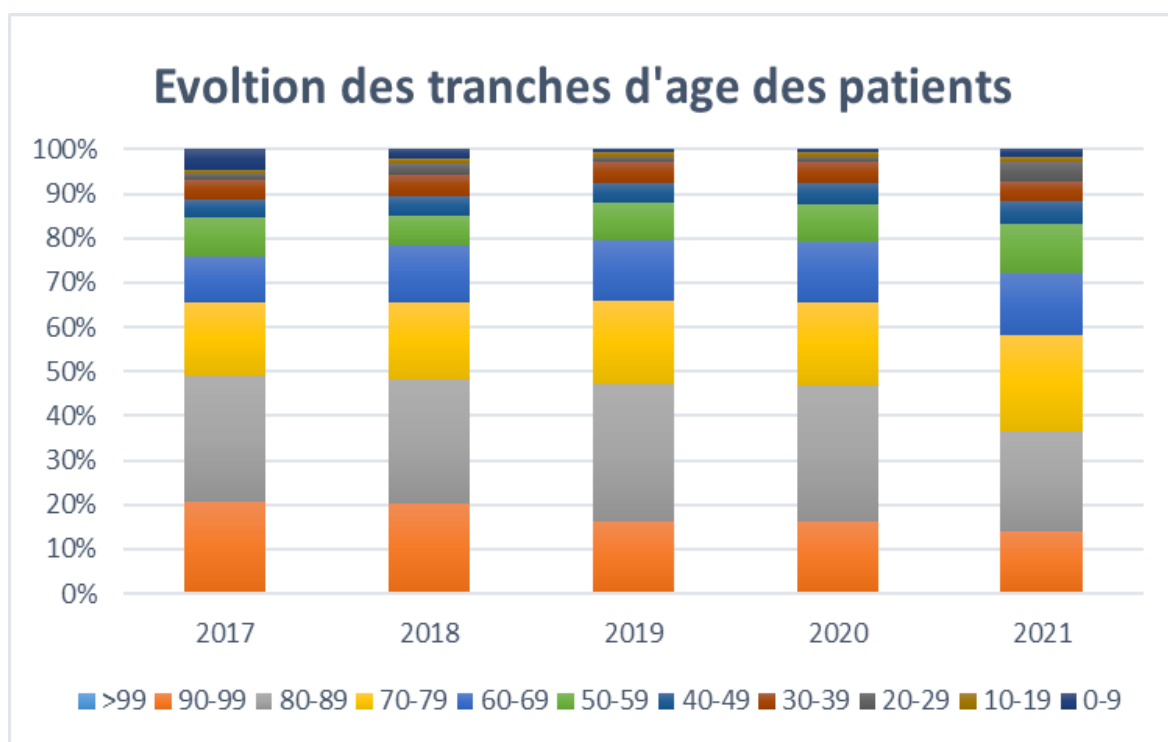


Figure 2. Répartition du nombre de patients chez qui une souche de *C. difficile* toxigène a été isolée en fonction de l'âge (2017-2021).

Les souches de PCR ribotypes 106, 014/20, 002, 126, 005, 078/126 et 027 sont les plus fréquemment retrouvées et représentent 48.67% (soit 110/226) des souches toxigènes (**Tableau III et figure 3**). Les autres PCR-ribotypes les plus fréquemment retrouvés, sont les PCR ribotypes 015/236/070 (n=6/ribotype).

Tableau III : Répartition des souches en fonction des PCR-ribotypes caractérisés en France

PCR-ribotype	Nombre de souches (%)				
	2021	2020	2019	2018	2017
027	8 (3,3)	16 (5,1)	11 (4,5)	14 (4,4)	37 (9,5)
014/020	30 (12,5)	37 (11,7)	33 (13,5)	76 (23,8)	61 (15,7)
106	25 (10,4)	14 (4,4)	12 (4,9)	9 (2,8)	18 (4,6)
078/126	22 (9,2)	24 (7,6)	26 (10,7)	33 (10,3)	29 (7,5)
002	15 (6,2)	15 (4,7)	15 (6,1)	18 (5,6)	31 (8)
005	10 (4,2)	12 (4)	6 (2,5)	9 (2,8)	0
015	6 (2,5)	16 (5,1)	10 (4,1)	8 (2,5)	0
236 (FR026)	6 (2,5)	5 (1,6)	1 (<1)	2 (<1)	0
070	6 (2,5)	2 (<1)	5 (2)	6 (1,9)	0
001	5 (2,1)	6 (1,9)	1 (<1)	8 (2,5)	10
003	5 (2,1)	3 (<1)	2 (1)	7 (2,2)	0
017	1 (<1)	2 (<1)	6 (2,5)	3 (<1)	1
Autres	101 (42,1)	186 (58,9)	100 (41)	148 (46,4)	201 (51,8°)
Non Déterminé	0 (<1)	0 (<1)	0 (<1)	0 (<1)	
Total	240	316	244	319	388

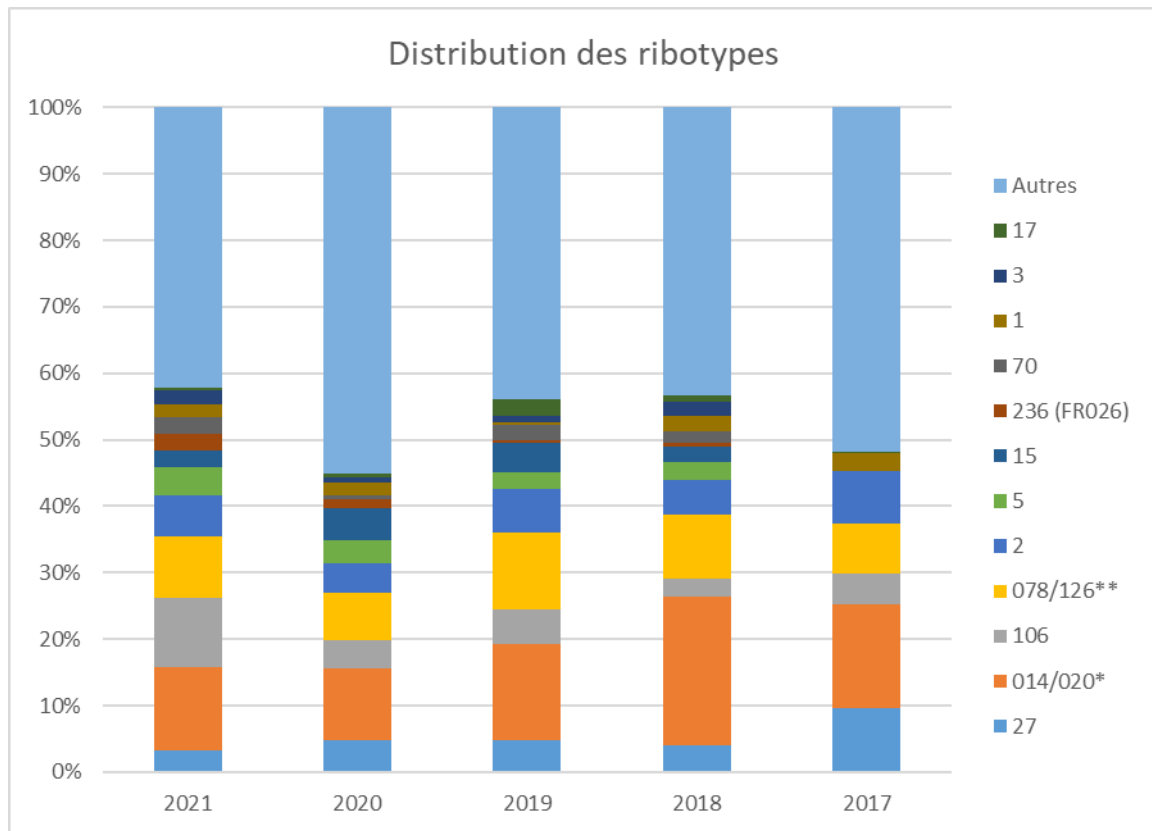


Figure 3 : Distribution des PCR ribotypes en 2021

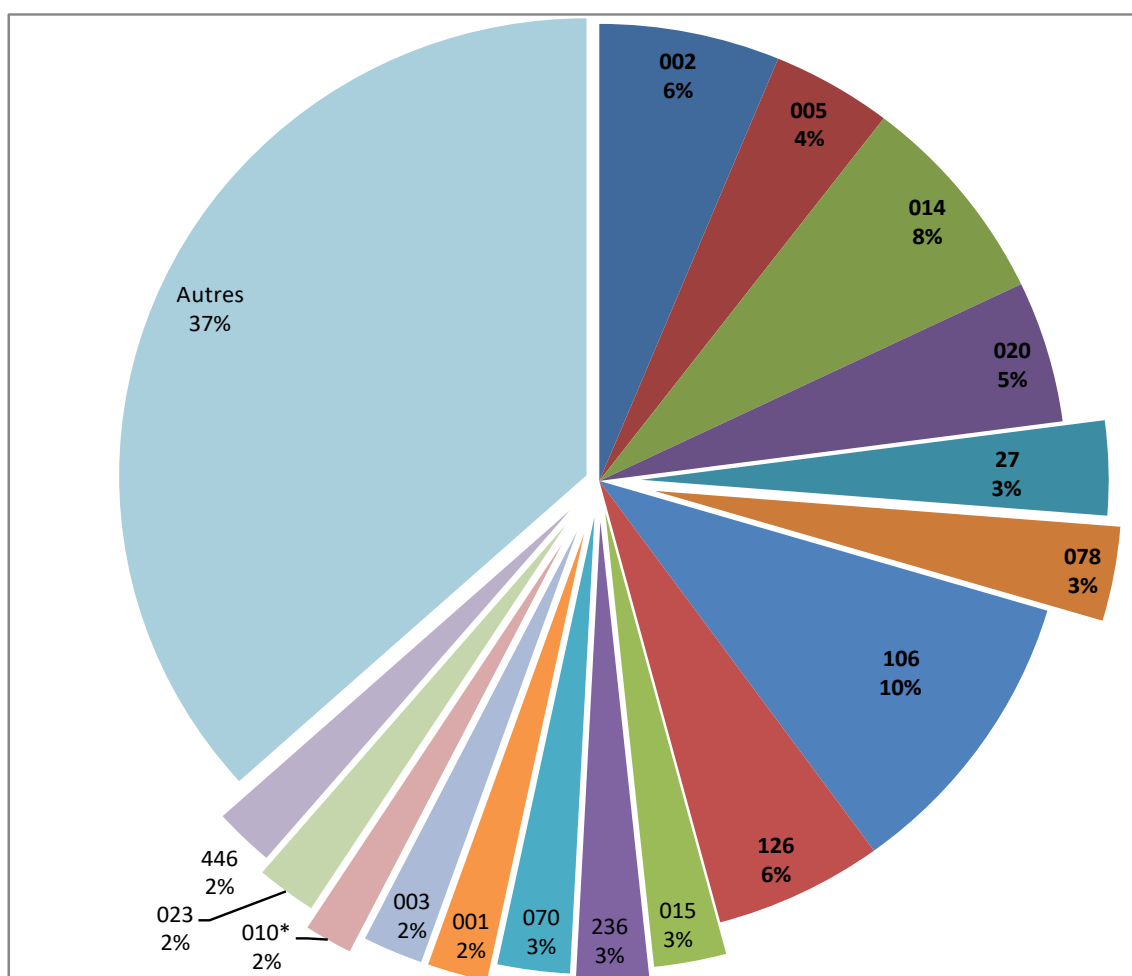


Figure 4. Répartition des PCR-ribotypes en 2021

Les PCR-ribotypes avec un nombre inférieur ou égal à 8 souches sont mis en évidence par détachement du camembert. Les PCR-ribotypes non toxigènes sont indiqués par un astérisque*.

Parmi les 226 souches de *C. difficile* toxigènes, 8 (3,54%) ont été identifiées comme appartenant au **PCR ribotype 027**. Parmi ces dernières, 6 souches sont des 027 dit « **historiques** » c'est-à-dire sensibles à la moxifloxacine ; elles ont été isolées à Dax (40) en Janvier, à Libourne (33) en Mars, à Limoges (87) en Juin, à Sibourg (13) en Août, à Brignoles (83) en Septembre et une autre dans le Sud-Est (pas d'information sur le département) en Octobre (**figure 4a**).

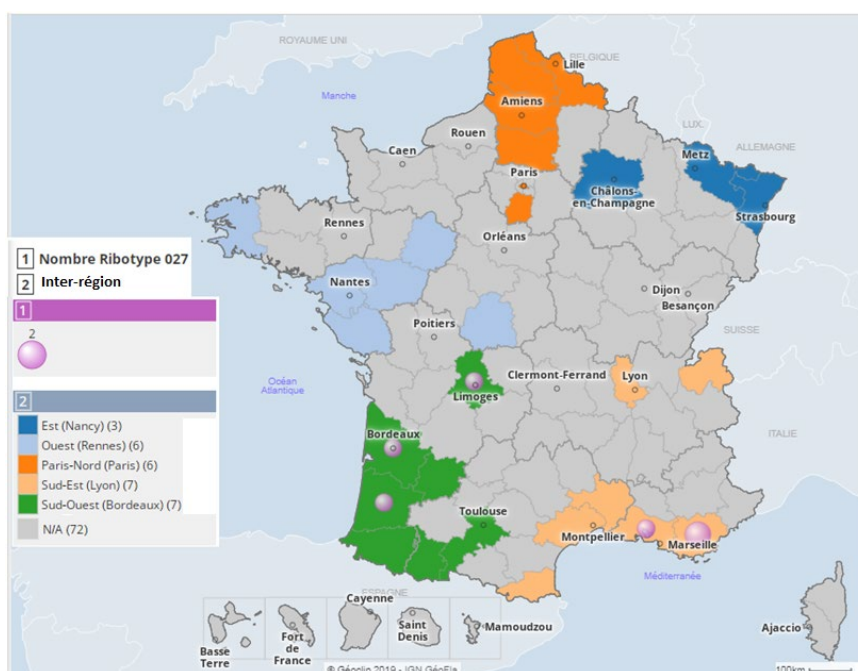


Figure 4a : Répartition des souches PCR-ribotype 027 historiques (cercles roses) en fonction des départements, en 2021.
 Les départements n'ayant pas envoyé des souches toxigènes sont représentés en gris.

Les 2 souches épidémiques 027 ont été isolées à Paris (figure 4b).

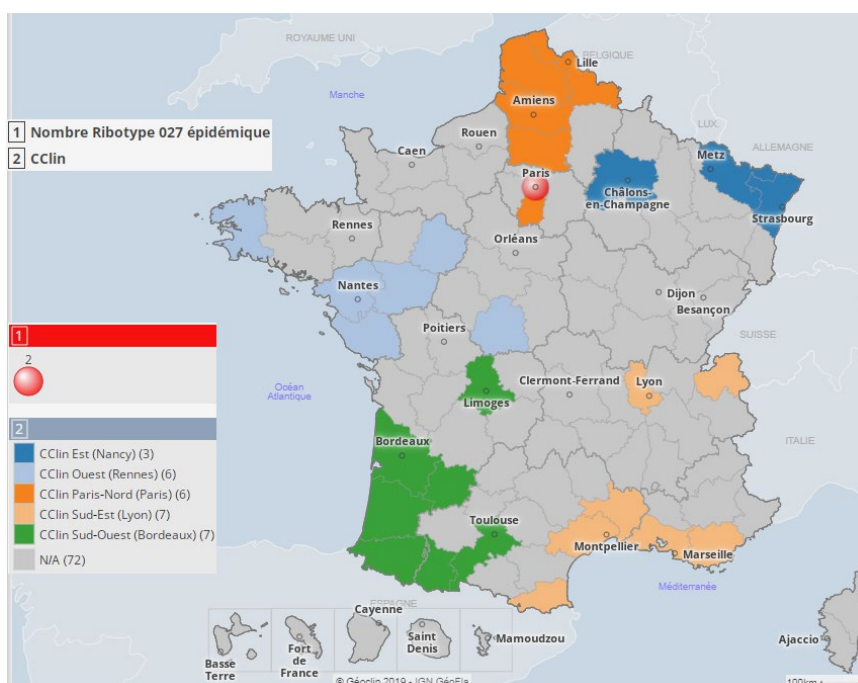


Figure 4b : Répartition des souches PCR-ribotype 027 épidémique (cercle rouge) en fonction du département en 2021.
 Les départements n'ayant pas envoyés de souches toxigènes sont représentés en gris.

3.3.2. SURVEILLANCE DE LA RESISTANCE DE *C. DIFFICILE* AUX ANTI-INFECTIONNELS

En 2021, la sensibilité des souches toxigènes de *C. difficile* à l'érythromycine, à la clindamycine, à la moxifloxacine et à la tétracycline (méthode des disques) a été testée pour 225 souches de *C. difficile* toxigènes. La détermination de la CMI du métronidazole et de la vancomycine par la méthode du E-test a été réalisée pour 225 souches.

Les taux de résistance (R+I) étaient pour l'érythromycine (diamètre < 22 mm)² de 14,2%, pour la clindamycine (diamètre < 15 mm)¹ de 95,5%, pour la moxifloxacine (diamètre < 21 mm)³ de 7,6%, pour la tétracycline (diamètre < 19 mm)¹ de 1,3% (**Tableau VIII**). On note une diminution de la résistance des souches de *C. difficile* aux 4 antibiotiques testés par rapport aux années précédentes.

Tableau VIII : Pourcentage de résistance (R+I) des souches toxigènes de *C. difficile* à l'érythromycine, à la clindamycine, à la moxifloxacine et à la tétracycline.

	Erythromycine	Clindamycine	Moxifloxacine	Tétracycline
% de souches/année	<22 mm	<15 mm	<21 mm	<19 mm
2017	38,7	98,9	35,6	8
2018	24,5	97,5	20,7	10,3
2019	25	91,8	17,2	12,7
2020	19,3	91,1	7,3	6,3
2021	14,2	95,5	7,6	1,3

Toutes les souches toxigènes étaient sensibles à la vancomycine (CMI ≤ 2 mg/l)² et au métronidazole (CMI ≤ 4 mg/l)². La répartition des CMI pour les 225 souches toxigènes est présentée sur la **figure 5**.

² Selon CASFM 2013

³ Selon CASFM-EUCAST Octobre 2020

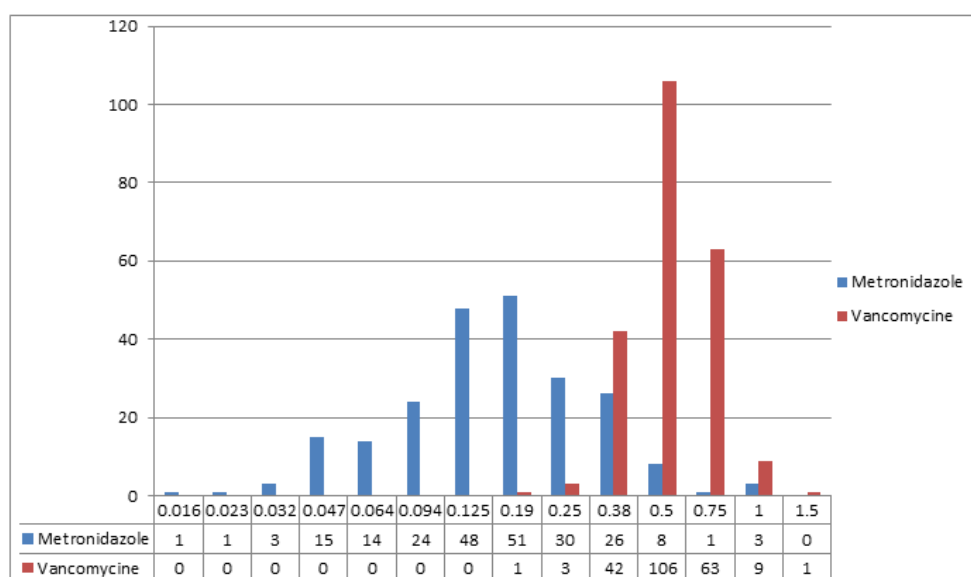


Figure 5 : Répartition des CMI Vancomycine et Métrotronidazole pour les 225 souches toxigènes.

3.3.3. PARTICIPATION AUX RESEAUX DE SURVEILLANCE

- Contribution à la surveillance nationale en interface avec Santé Publique France

Les résultats de typage bactérien sont enregistrés sur un site web sécurisé

(https://epidmio.pasteur.fr/anaerobies/enquetes/1399392638/scripts/authentify.php?test_cookie=1&voo_665809112=cc4dfdb7b5995439bf9eb811fae4ddaf). L'émergence du clone épidémique 027 de *C. difficile* dans une nouvelle région est immédiatement signalée à Santé Publique France.

Ce site est consultable dans sa totalité par Santé Publique France, le CNR des Anaérobies. Il est régulièrement mis à jour. Ce site anciennement hébergé par l'Institut Pasteur a été relocalisé en janvier 2016 au niveau de la société Epiconcept, sans que cela n'affecte le rendu ou la consultation des résultats.

La surveillance des ICD en France a été réalisée en 2016 et 2017 au travers du réseau **BMR RAISIN**.

Les résultats de la surveillance des ICD en France a fait l'objet en 2019 d'un article de synthèse publié dans *eurosurveillance* en collaboration avec Santé Publique France (COLOMB-COTINAT M, ASSOUVIE L, DURAND J, DANIAU C, LEON L, MAUGAT S, SOING-ALTRACH S, GATEAU C, COUTURIER J, ARNAUD I, ASTAGNEAU P, BERGER-CARBONNE A, BARBUT F. *Epidemiology of Clostridioides difficile infections, France, 2010 to 2017*. *Euro Surveill*. 2019 Aug;24(35). doi: 10.2807/1560-7917.ES.2019.24.35.1800638.)

- Contribution aux réseaux de surveillance internationaux en particulier européens

- F. Barbut et J. Couturier sont membres de l'**ESGCD** (European Study Group on *C. difficile*). F. Barbut est membre du comité exécutif et a occupé les fonctions de trésorier entre 2009 et 2016 puis a de nouveau rejoint le groupe en tant que trésorier en 2022.

- Les données de surveillance du réseau **BMR RAISIN** sont transmises à l'ECDC afin d'alimenter le réseau européen de surveillance des ICD (**ECDIS-Net : ECDC integrated surveillance of CDI epidemiology and microbiology in acute care hospitals, 2016-2021**).

- F. Barbut a participé au projet « **ECDC strategic framework for integration of genomic typing: 2019-2021**).

- F. Barbut et J. Couturier ont participé au projet européen **COMBACT CDI** en assurant la coordination française de ce projet (VIPREY VF, DAVIS G, BENSON A, EWIN D, SPITTAL W, VERNON J, RUPNIK M, BANZ A, ALLANTAZ F, CLEUZIAT P, THE COMBACTE-CDI NATIONAL COORDINATORS, WILCOX M, DAVIES K, on behalf of the COMBACTE-CDI consortium. *Key differences in diagnosis and patient populations between community and inpatient Clostridioides difficile infections (CDI): results from Combatting Bacterial Resistance in Europe CDI (COMBACTE-CDI)*, 2018. *Eurosurveillance* 2022, article sous presse)

- F. Barbut et C. Eckert ont participé au projet **CloSER** dont l'objectif était de suivre la résistance des souches de *C. difficile* aux antibiotiques (*Pan-European Longitudinal Surveillance of Antibiotic Resistance among Prevalent Clostridium difficile Ribotypes*) (Freeman J, Vernon J, Pilling S, Morris K, Nicholson S, Shearman S, Longshaw C, Wilcox MH; Pan-European Longitudinal Surveillance of Antibiotic Resistance among Prevalent Clostridium difficile Ribotypes Study Group. *Clin Microbiol Infect*. 2018 Jul;24(7):724-731.)

- F. Barbut a participé à la rédaction d'un article de synthèse sur les différents moyens de surveillance des ICD (KRUTOVA M, KINROSS P, BARBUT F, HAJDU A, WILCOX MH, KUIJPER EJ; SURVEY CONTRIBUTORS. *How To: Surveillance Of Clostridium difficile Infections Clin Microbiol Infect*. 2018 May; 24(5):469-475.)

- Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance réalisée

1. "Microbiological support to European surveillance of *Clostridium difficile* infections » (2016-2018) (Appel d'offre de l'ECDC)

Un consortium de 4 pays (Royaume-Uni, Autriche, Pays-Bas et France) a répondu à l'appel d'offre de l'ECDC.

2. European surveillance of *Clostridium difficile* infections (Surveillance européenne des infections à *C. difficile*) (2016-2017)

Cette étude a été coordonnée par l'ECDC (Carl Suetens). L. Lemée, H. Marchandin, H. Jean-Pierre, L. Cavalié, C. Eckert et F. Barbut ont participé en janvier 2016 et en 2017 au protocole de surveillance des ICD proposé par l'ECDC (module renforcé).

3. Etude DIFTEC

DIFTEC est un réseau de surveillance qui inclut 22 hôpitaux qui surveillent selon une méthodologie standardisée l'ensemble des infections à *C. difficile* diagnostiqués deux mois par an (2016-2019)

KHANAFAER N, HEMMENDINGER A, GUERY B, VACHÉE A, ROGUES AM, GRAVET A, BOUTOILLE D, VANJAK D, BARBUT F, VANHEMS P. *Establishment of a French surveillance system of Clostridioides difficile infection: comparison of patient's characteristics with other national and European data*.

Anaerobe. 2021 Jun;69:102329. doi: 10.1016/j.anaerobe.2021.102329. Epub 2021 Feb 1

4. Surveillance du clone épidémique 027 en France

Cette étude avait pour objectif de déterminer par MLVA la microévolution du clone épidémique 027 au cours du temps et en fonction des régions où il a été isolé.

COUTURIER J, ECKERT C, BARBUT F. *Spatio-temporal variability of the epidemic 027 Clostridium difficile strains in France based on MLVA typing*. *Anaerobes* 2017, Aug 12;48:179-183.

EYRE DW, DAVIES KA, DAVIS G, FAWLEY WN, DINGLE KE, DE MAIO N, KARAS A, CROOK DW, PETO TEA, WALKER AS, WILCOX MH; EUCLID STUDY GROUP.

Two Distinct Patterns of Clostridium difficile Diversity Across Europe Indicating Contrasting Routes of Spread. *Clin Infect Dis*. 2018 Sep 14;67(7):1035-1044. doi: 10.1093/cid/ciy252.

5. Surmortalité des patients infectés par *C. difficile*

Cette étude a comparé des patients infectés par *C. difficile* à des patients témoins (non infectés par *C. difficile*) appariés sur un score de propension. Les résultats ont montré un sur-risque significatif de mortalité à J30 et dans l'année qui suit l'infection (HR 1,58)

BARBUT F, BOUÉE S, LONGEPIERRE L, GOLDBERG M, BENSOUSSAN C, LEVY-BACHELOT L.

Excess mortality between 2007 and 2014 among patients with *Clostridium difficile* infection: a French Health Insurance Database analysis. *J Hosp Infect.* 2018 Jan; 98(1):21-28

6. *C. difficile* en milieu communautaire

Une étude réalisée auprès de plus de 2500 patients de ville consultant leur médecin généraliste pour troubles digestifs a montré que *C. difficile* représentait la deuxième cause la plus fréquente de diarrhées communautaires (3,27%) après les *Campylobacter*.

COUTURIER J., ECKERT C., DAY N., BOUÉE S., YOUSSEF A., GRANDVOINET L., CASTELLA W., LALANDE V., BARBUT F. *Clostridium difficile* infections in general practice: results of a laboratory-based cohort study.

Clin. Microbiol. Infect. 2019 May; 25(5):588-594

7. *C. difficile* chez les nouveaux nés

Le suivi longitudinal du portage de *C. difficile* chez les nouveaux-nés a montré un taux de portage asymptomatique particulièrement élevé (61%) et constitué majoritairement de souches non toxigènes appartenant à 2 PCR ribotypes particulier (FR082 (35%) and 032 (60%))

FERRARIS L, COUTURIER J, ECKERT C, DELANNOY J, BARBUT F, BUTEL MJ, AIRES J

Carriage and colonization of *C. difficile* in preterm neonates: A longitudinal prospective study
PloS one 2019 14 (2), e0212568

8. Facteurs influençant l'incidence des ICD

Cette étude multicentrique européenne a montré que les méthodes utilisées pour le diagnostic (dépistage des toxines libres versus méthodes moléculaires), la densité de prescription et le type d'établissement hospitalier étaient les 3 principaux déterminants influençant l'incidence des ICD. L'expression de l'incidence devrait être stratifiée sur ces paramètres.

DAVIES K., DAVIS G., BARBUT F., ECKERT C., PETROSILLO N., PISAPIA R., GÄRTNER B., BERGER FK, REIGADAS-RAMIREZ E., BOUZA E., DEMONT C., WILCOX MH Factors affecting reported *Clostridium difficile* infection rates; the more you look the more you find, but should you believe what you see?

Anaerobes 2020, Apr;62:102178.

9. COMBACTE-CDI

Ce projet multicentrique européen a permis d'évaluer à 4,4% et 1,3% la prévalence des ICD en milieu hospitalier et communautaire, respectivement. La prévalence du clone 027 était la plus forte dans les pays de l'Est qui ont aussi la densité de prescription la plus faible. Cette étude de prévalence a montré que le sous-diagnostic de *C. difficile* était de 47,3% (absence de suspicion clinique) dans les formes communautaires comparé à 3,6% dans les formes hospitalières.

VIPREY VF, DAVIS G, BENSON A., EWIN D., SPITTAL W., VERNON J, RUPNIK M., BANZ A. , ALLANTAZ F, CLEUZIAT P, THE COMBACTE-CDI NATIONAL COORDINATORS, WILCOX M., DAVIES K, on behalf of the COMBACTE-CDI consortium. Key differences in diagnosis and patient populations between community and inpatient *Clostridioides difficile* infections (CDI): results from Combatting Bacterial Resistance in Europe CDI (COMBACTE-CDI), 2018. *Eurosurveillance* 2022, article sous presse

3.3.4. CONTRIBUTION A L'ALERTE

La surveillance des infections à *C. difficile* en France repose sur le signalement aux autorités sanitaires (ARS et CePIAS) des épidémies et des cas sévères d'infections (cf guide Raisin,

http://www.invs.sante.fr/publications/2006/guide_raisin/). Il s'agit d'une surveillance ciblée. Les établissements réalisant un signalement doivent envoyer au laboratoire expert de leur région les souches isolées de l'épisode signalé afin d'assurer la surveillance de l'éventuelle dissémination du clone épidémique 027 sur le territoire français ainsi que celle d'autres clones émergents.

Ces dernières années (2017-2021) ont été marquées par :

- La maîtrise de la diffusion du clone 027 qui représenté moins de 5% des ribotypes isolés en France. Les souches isolées sont essentiellement des clones dits « historiques » sensibles à la moxifloxacine et à l'érythromycine.
- La diminution très nette de la résistance des souches à la moxifloxacine.
- L'investigation de cas groupés notamment en gériatrie ou en EHPAD (GATEAU C, DEBOSCKER S, COUTURIER J, VOGEL T, SCHMITT E, MULLER J, MÉNARD C, TURCAN B, ZAIDI RS, YOUSSEF A, LAVIGNE T, BARBUT F. *Local outbreak of Clostridioides difficile PCR-Ribotype 018 investigated by multi locus variable number tandem repeat analysis, whole genome multi locus sequence typing and core genome single nucleotide polymorphism typing. Anaerobe. 2019 Aug 13:1*).

LISTE DES PUBLICATIONS
LABORATOIRE ASSOCIE
Clostridioides difficile

4. LISTE DES PUBLICATIONS

4.1. Publications nationales

COUTURIER J., BARBUT F.

Transplantation de microbiote fécal et infections à *Clostridium difficile*
Feuillets de Biologie, 2018 Feuillets de Biologie n°342 - Mai 2018, 57-64

COUTURIER J, SYED ZAIDI R, FOUQUET C, GATEAU C ECKERT C, BARBUT F

Comparaison de l'activité *in situ* de l'hypochlorite de sodium et d'un détergent-désinfectant vis-à-vis des spores de *Clostridium difficile* : résultats d'une étude prospective en cross-over.
Hygiènes, 2018 - Volume XXVI - n° 5, 185-192

BARBUT F., COUTURIER J.

Microbiote intestinal : le modèle de l'infection à *Clostridioides difficile*
La revue du praticien 2019, 69, 2-9

COUTURIER J, RABATE M, NESA D, ADAM M, PRAT L, JOLIVET S, BARBUT F

Évaluation de la dissémination des bactéries à partir des toilettes : résultats d'une étude expérimentale.
Hygiènes 2022, 1, 1-7

BARBUT F., ECKERT C., LALANDE V., LE NEINDRE K., COUTURIER J

Infections digestives à *Clostridioides difficile*
La revue du praticien, 2022, soumis

4.2. Publications internationales

2017

JULLIAN-DESAYES I, LANDELLE C, MALLARET MR, BRUN-BUISSON C, BARBUT F.

Clostridium difficile contamination of health care workers' hands and its potential contribution to the spread of infection: Review of the literature.
Am. J. Infect. Control. 2017, 45(1):51-58. doi: 10.1016/j.ajic.2016.08.017. Review.

SOKOL H, LALANDE V, LANDMAN C, BOURRIER A, NION-LARMURIER I, RAJCA S, KIRCHGESNER J, SEKSIK P, COSNES J, BARBUT F, BEAUGERIE L.

Clostridium difficile infection in acute flares of inflammatory bowel disease: A prospective study.
Dig Liver Dis. 2017 Jan 30. pii: S1590-8658(17)30189-5. doi: 10.1016/j.dld.2017.01.162

KHANAFER N., VANHEMS P., BARBUT F., LUXEMBURGER C. , CDI01 study group.

Factors associated with *Clostridium difficile* infection : a nested case-control study in a three year prospective cohort.
Anaerobe 2017, 44:117-123.

M. DOUFAIR, C. ECKERT, L. DRIEUX, C. AMANI, L. BODIN, H. CORDEL, M. DENIS, JD. GRANGE, G. ARLET, F. BARBUT

Clostridium difficile bacteremia: report of two cases in French hospitals and systematic review of the literature
ID cases 2017, 8, 54-62.

BARBUT F., GOUOT C., LAPIDUS N., SUZON L., SYED ZAIDI R., LALANDE V., ECKERT C.

Faecal lactoferrin and calprotectin in patients with *Clostridium difficile* infection: a prospective case-control study.

Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 2017 Dec;36(12):2423-2430

COUTURIER J., ECKERT C., BARBUT F.

Spatio-temporal variability of the epidemic 027 *Clostridium difficile* strains in France based on MLVA typing.

Anaerobes 2017, Aug 12;48:179-183.

2018

BARBUT F, BOUÉE S, LONGEPIERRE L, GOLDBERG M, BENSOUSSAN C, LEVY-BACHELOT L.

Excess mortality between 2007 and 2014 among patients with *Clostridium difficile* infection: a French Health Insurance Database analysis.

J Hosp Infect. 2018 Jan;98(1):21-28

COUTURIER J., DAVIES K., GATEAU C., BARBUT F.

Ribotypes and new virulent strains across Europe

Adv Exp Med Biol. 2018;1050:45-58.

TSCHUDIN-SUTTER S, KUIJPER E, DUROVIC A., VEHRSCCHILD M, BARBUT F, ECKERT C, FITZPATRICK F, HELL M, NORÉN T, O'DRISCOLL J, COIA J, GASTMEIER P, VON MÜLLER L, WILCOX M., WIDMER A, on behalf of the Committee*

Guidance document for prevention of *Clostridium difficile* infection in acute healthcare settings
Clin Microbiol Infect. 2018 Oct;24(10):1051-1054.

HARDY A, SABATIER V, ROSELLO O, SALAUZE B, BARBUT F, VIALLE R.

More than just teddy bears: Unconventional transmission agents in the operating room.

Arch Pediatr. 2018 Oct;25(7):416-420

DE CURRAIZE C, ROUSSEAU C, CORVEC S, EL-HELALI N, FIHMAN V, BARBUT F, COLLIGNON A, LE MONNIER A.

Variable spectrum of disease and risk factors of peripartum *Clostridium difficile* infection: report of 14 cases from French hospitals and literature review.

Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2018 Dec;37(12):2293-2299

KHANAFAER N, VANHEMS P, BARBUT F, ECKERT C, PERRAUD M, VANDENESCH F, LUXEMBURGER C, DEMONT C; CDI01 Study Group.

Outcomes of *Clostridium difficile*-suspected diarrhea in a French university hospital.

Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2018 Nov;37(11):2123-2130

ECKERT C, DEVALLIÈRE T, SYED-ZAIDI R, LALANDE V, BARBUT F.

Evaluation of a novel molecular assay to diagnose toxigenic strains of *Clostridium difficile*.

Anaerobe. 2018 Aug;52: 111-114.

EYRE DW, DAVIES KA, DAVIS G, FAWLEY WN, DINGLE KE, DE MAIO N, KARAS A, CROOK DW, PETO TEA, WALKER AS, WILCOX MH; EUCLID STUDY GROUP .

Two Distinct Patterns of *Clostridium difficile* Diversity Across Europe Indicating Contrasting Routes of Spread.

Clin Infect Dis. 2018 Sep 14;67(7):1035-1044. doi: 10.1093/cid/ciy252.

KRUTOVA M, KINROSS P, BARBUT F, HAJDU A, WILCOX MH, KUIJPER EJ; SURVEY CONTRIBUTORS.

How To: Surveillance Of *Clostridium difficile* Infections

Clin Microbiol Infect. 2018 May;24(5):469-475.

2019

BARBUT F, GALPERINE T, VANHEMS P, LE MONNIER A, JEANBAT V., DUBURCQ A, ALAMI S, BENSOUSSAN C, FAGNANI F

Quality of life and utility decrement associated with *Clostridium difficile* infection in a French hospital setting.

Health Qual Life Outcomes. 2019 Jan 11;17(1):6. doi: 10.1186/s12955-019-1081-5.

COUTURIER J., ECKERT C., DAY N., BOUÉE S., YOUSSEF A., GRANDVOINET L., CASTELLA W., LALANDE V., BARBUT F.

Clostridium difficile infections in general practice: results of a laboratory-based cohort study.

Clin. Microbiol. Infect. 2019 May;25(5):588-594

KNIGHT DR, KULLIN B, ANDROGA GO, BARBUT F, ECKERT C, JOHNSON.

Evolutionary and Genomic Insights into *Clostridioides difficile* Sequence Type 11: a Diverse Zoonotic and Antimicrobial-Resistant Lineage of Global One Health Importance

mBio 2019 10 (2), e00446-19

FERRARIS L, COUTURIER J, ECKERT C, DELANNOY J, BARBUT F, BUTEL MJ, AIRES J

Carriage and colonization of *C. difficile* in preterm neonates: A longitudinal prospective study

PLoS one 2019 14 (2), e0212568

LE MARÉCHAL C, DRUILHE C, REPÉRANT E, BOSCHER E, ROUXEL S, LE ROUX S, POËZÉVARA T, ZIEBAL C, HOUDAYER C, NAGARD B, BARBUT F, POURCHER AM, DENIS M.

Evaluation of the occurrence of sporulating and nonsporulating pathogenic bacteria in manure and in digestate of five agricultural biogas plants.

Microbiology Open. 2019 Oct;8(10):e872. doi: 10.1002/mbo3.872.

QUERY B, GALPERINE T, BARBUT F.

Clostridioides difficile: diagnosis and treatments.

BMJ. 2019 Aug 20;366:l4609. doi: 10.1136/bmj.l4609. Review.

MARVAUD JC, QUEVEDO-TORRES S, ECKERT C, JANOIR C, BARBUT F.

Virulence of new variant strains of *Clostridium difficile* producing only toxin A or binary toxin in the hamster model.

New Microbes New Infect. 2019 Aug 16;32:100590.

GATEAU C, DEBOSCKER S, COUTURIER J, VOGEL T, SCHMITT E, MULLER J, MÉNARD C, TURCAN B, ZAIDI RS, YOUSSEF A, LAVIGNE T, BARBUT F.

Local outbreak of *Clostridioides difficile* PCR-Ribotype 018 investigated by multi locus variable number tandem repeat analysis, whole genome multi locus sequence typing and core genome single nucleotide polymorphism typing.

Anaerobe. 2019 Aug 13:102087.

COLOMB-COTINAT M, ASSOUVIE L, DURAND J, DANIAU C, LEON L, MAUGAT S, SOING-ALTRACH S, GATEAU C, COUTURIER J, ARNAUD I, ASTAGNEAU P, BERGER-CARBONNE A, BARBUT F.

Epidemiology of *Clostridioides difficile* infections, France, 2010 to 2017.

Euro Surveill. 2019 Aug;24(35).

2020

SAMBRI V, GATEAU C, ZANNOLI S, DIRANI G, COUTURIER J, OP DEN BUIJS I, ROYMANS R, HALLET E, ARNOLD M, ZUMBERHAUS A, STEINER S, VAN DE BOVENKAMP J, ALTWEGG M, BERLINGER L, BARBUT F; revogene *C. difficile* study group.

Diagnosing *Clostridioides difficile* infections with molecular diagnostics: multicenter evaluation of revogene *C. difficile* assay.

Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2020 Jun;39(6):1169-1175.

DAVIES K., DAVIS G., BARBUT F., ECKERT C., PETROSILLO N., PISAPIA R., GÄRTNER B., BERGER FK, REIGADAS-RAMIREZ E., BOUZA E., DEMONT C., WILCOX MH

Factors affecting reported *Clostridium difficile* infection rates; the more you look the more you find, but should you believe what you see?

Anaerobes 2020, Apr;62:102178.

LE MARÉCHAL C, GATEAU C, POEZEVARA T, COUTURIER J, ROUXEL S, ZYED-SAIDI R, HOUARD E, POURCHER AM, DENIS M, BARBUT F.

Characterization of *Clostridioides difficile* strains isolated from manure and digestate in five agricultural biogas plants.

Anaerobe. 2020 Apr; 62:102180.

GUERY B, BARBUT F, TSCHUDIN-SUTTER S.

Diagnostic and therapy of severe *Clostridioides difficile* infections in the ICU.

Curr Opin Crit Care. 2020 Oct;26(5):450-458.

DJUIKOUÉ IC, TAMBO E, TAZEMDA G, NJAJOU O, MAKOU DJOU D, SOKENG V, WANDJI M, TOMI C, NANFACK A, DAYOMO A, LACMAGO S, TASSADJO F, SIPOWO RT, KAKAM C, DJOKO AB, ASSOBN CN, ANDREMONT A, BARBUT F.

Evaluation of inpatients *Clostridium difficile* prevalence and risk factors in Cameroon.

Infect Dis Poverty. 2020 Aug 31;9(1):122.

COUTURIER J, FRANCONERI L, JANOIR C, FERRARIS L, SYED ZAIDI R, YOUSSEF A., GATEAU C, HOYS S, AIRES J, BARBUT F

Characterization of non toxigenic strains of *C. difficile* isolated from preterm neonates and *in vivo* study of their protective effect.

Journal of Clinical Medicine, 2020 Nov 13;9(11):3650.

2021

KHANAFER N, HEMMENDINGER A, GUERY B, VACHÉE A, ROGUES AM, GRAVET A, BOUTOILLE D, VANJAK D, BARBUT F, VANHEMS P.

Establishment of a French surveillance system of *Clostridioides difficile* infection: comparison of patient's characteristics with other national and European data.

Anaerobe. 2021 Jun; 69:102329. doi: 10.1016/j.anaerobe.2021.102329. Epub 2021 Feb 1.

PMID: 33540110

GUERY B, BERGER P, GAUZIT R, GOURDON M, BARBUT F; DAFNE STUDY GROUP,

A prospective, observational study of fidaxomicin use for *Clostridioides difficile* infection in France.

J Int Med Res. 2021 Jun; 49(6):3000605211021278. doi: 10.1177/03000605211021278.

GUILLEMARD E, POIREL M., SCHAFER F., DQUINQUIS L., KEICHER C., WAGNER F., SZAJEWSKA H., BARBUT F., DERRIEN M., MOLFERTHEINER P.

Consumption of a fermented milk product induces faster gut microbiota recovery, in subjects with dyspeptic symptoms treated for *Helicobacter pylori* eradication: a randomized controlled trial.

Nutrients 2021 Sep 11;13(9):3171. doi: 10.3390/nu13093171.

DERONGS L, DRUILHE C, LE MARÉCHAL CA, BARBUT F, HEURTEVENT L, BUFFET J, MARTIN L, ZIEBAL C, POEZEVARA T, ROUXEL S, HOUARD E, POURCHER AM
Influence of operating conditions on the persistence of indicator bacteria and of two pathogenic clostridia in semi-continuous mesophilic anaerobic reactors
Waste Manag. 2021 Nov; 135:275. doi: 10.1016/j.wasman.2021.09.001. Epub 2021 Sep 21.

2022

BOUDJELAL Y, KRUTOVA M, DJEBBAR A, SEBAIHIA M, ROUABHIA S, COUTURIER J, SYED-ZAIDI R, **BARBUT F**.

Molecular epidemiology and antimicrobial resistance patterns of *Clostridioides difficile* isolates in Algerian hospitals.

Journal of Infection in Developing Countries, 2022 sous presse

GATEAU C, MELO GD, URIAC P, TASSEAU O, RENAULT J, BLONDEL A, GOUAULT N, **BARBUT F**, MINOPRIO P.

Irreversible inhibitors of the proline racemase unveil innovative mechanism of action as antibacterial agents against *Clostridioides difficile*.

Chem Biol Drug Des. 2022 Apr;99(4):513-526.

VIPREY VF, DAVIS G, BENSON A., EWIN D., SPITTAL W., VERNON J, RUPNIK M., BANZ A., ALLANTAZ F, CLEUZIAT P, THE **COMBACTE-CDI NATIONAL COORDINATORS**, WILCOX M., DAVIES K, *on behalf of the COMBACTE-CDI consortium*

Key differences in diagnosis and patient populations between community and inpatient *Clostridioides difficile* infections (CDI): results from Combatting Bacterial Resistance in Europe CDI (COMBACTE-CDI), 2018.

Eurosurveillance 2022, article sous presse

RANC AG, SENTIS C, COUTURIER J, **BARBUT F**, TRISTAN A, BUIS C, SANTOS K, FARRAH S, DURAFFOURG P, VANDENESCH F, DAUWALDER I, LAURENT F.

Performances of BD MAX™ CDIFF assay for detection of toxigenic *Clostridioides difficile* using Cary-Blair preserved samples.

Diagnostic Microbiology & Infectious Disease, 2022, article sous presse

COUTURIER J, LEPAGE P, JOLIVET S, ANCEL PY, BUTEL MJ, AIRES J, **BARBUT F**.

Gut microbiota diversity of preterm neonates is associated with *Clostridioides difficile* colonization.

Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2022, article soumis.

COURBIN V, COUTURIER J, GATEAU C, BARBUT F.

Transmission patterns of *Clostridioides difficile* in a non-epidemic setting based on WGS analysis.

J. Infection, 2022, article soumis.

4.3. Communications nationales

2017

COUTURIER J., FOUQUET C. , SYED ZAIDI R., ECKERT C., BARBUT F.

Comparaison de l'activité in situ de l'hypochlorite de sodium et d'un détergent-désinfectant vis-à-vis des spores de *Clostridium difficile* : résultats d'une étude prospective en cross over.

28ème Congrès de la société française d'Hygiène Hospitalière.

Nice, 7-9 juin 2017 (communication orale).

GUERY B., BARBUT F., BOUTOILLE D., MARIE ROGUE A., VACHEE A., VANHEMS P., VANJAK D.
pour le réseau National DIFTEC.

La prise en charge des infections à *Clostridium difficile* : premières données du réseau national DIFTEC

18èmes Journées Nationales d'Infectiologie

Saint-Malo, 21-23 juin 2017 (communication orale).

KHANAFER N., DEMONT C., BARBUT F., VANHEMS P.

Complications et pronostic des diarrhées à *C. difficile* : une cohorte prospective

18èmes Journées Nationales d'Infectiologie

Saint-Malo, 21-23 juin 2017 (communication orale).

GATEAU C., COUTURIER J., LALANDE V., ECKERT C., BARBUT F.

Evaluation of a molecular assay for the detection of toxigenic *Clostridium difficile* isolates.

37ème Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse

Paris, 18-19 décembre 2017 (Poster).

BARBUT F., GALPERINE T., VANHEMS P., ALBAN LE MONNIER A., JEANBAT V., ANNE DUBURQ A., FAGNANI F.

Impact de l'infection à *C. difficile* sur la qualité de vie des patients : une étude prospective multicentrique française.

37ème Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse

Paris, 18-19 décembre 2017 (Communication orale).

COUTURIER J, FOUQUET C, SYED ZAIDI R, ECKERT C , BARBUT F.

Comparaison de l'activité in situ de l'hypochlorite de sodium et d'un détergent-désinfectant vis-à-vis des spores de *Clostridium difficile* : résultats d'une étude prospective en cross over.

XVIIIe Congrès de la SFHH,

Marseille, 7-9 Juin , 2017. (communication orale)

LE MARECHAL, C., BOSCHER, E., REPERANT, E., ROUXEL, S., POEZEVARA, T., HOUDAYER, C., NAGARD, B., BARBUT, F., DRUILHE, C., POURCHER, A.M., DENIS, M..

Evaluation de la contamination de digestats de méthanisation par des bactéries pathogènes sporulantes et non-sporulantes.

Congrès de la société française de microbiologie, Cité des sciences et de l'industrie, Paris, 9-11 octobre 2017.

2018

COUTURIER J, LE BOZEC A , ADAM M, NESA D, BRUSAFERRO S, MADIA A, ARNOLDO L, BEST E, PARNELL P, WILCOX M, BARBUT F

Etude comparative multi-site de la dissémination bactérienne liée à deux méthodes de séchage des mains : résultats du site français

XXIXe Congrès National de la société française d'hygiène hospitalière,

Montpellier, 6-8 juin 2018 (poster commenté)

GRAVET A, VACHEE A, BARBUT F, GUERY B, VANHEMS P, BOUTOILLED, VANJAK D pour le Réseau National Diftec.

Clostridium difficile (surveillance DIFTEC) : écart avec les recommandations ESCMID 2014

38ème RICAI, Paris, 17-18 décembre 2018 (CO-090)

GUERY B, BERGER P, GAUZIT R, GOURDON M, BARBUT F

"French observational study of fidaxomicin use for *Clostridioides difficile* infection".

38ème RICAI, Paris, 17-18 décembre 2018 (CO-089)

C. GATEAU , S. DEBOSCKER , J. COUTURIE , T. VOGEL , E. SCHMITT , J. MULLER, C. MENARD , B. TURCAN , R. SYED ZAIDI , A. YOUSSEUF, T. LAVIGNE , F. BARBUT

"Epidémie d'infections à *Clostridium difficile* de PCR-Ribotype 018 investiguée par MLVA, wgMLST et cgSNP"

38ème RICAI, Paris, 17-18 décembre 2018 (CO-050)

GATEAU C., YOUSSEUF A., SYED ZAIDI R, COUTURIER J, BARBUT F ET CASPAR Y

"Epidémiologie moléculaire des souches de *Clostridium difficile* circulant en France en 2017-2018"

38ème RICAI, Paris, 17-18 décembre 2018 (P-130)

BARBUT F.

C. difficile en pathologie humaine ; rôle du CNR

Séminaire de l'ANSES (invitation Olivier Firmesse)

11 décembre 2018, Maison Alfort

2020

LE MARECHAL C, MARAULT M, MARTIN L, GATEAU C, POEZEVARA T, COUTURIER J, ROUXEL S, SYED-ZAIDI R, YOUSSEUFA, KOOH P, BARBUT F, FIRMESSE O

Détection et caractérisation de souches de *Clostridioides difficile* d'origines alimentaires et animales en France (DIFALIBO)

Journée de l'ANSES, 2020 (communication orale)

COURBIN, J. COUTURIER, C. GATEAU, R. SYED ZAIDI, A. YOUSSEUF et F. BARBUT

Détermination du taux de transmission intra-hospitalier de *Clostridioides difficile*

40ème RICAI (live) 14-15 décembre 2020

2021

COUTURIER J., M. RABATE, D. NESA, M. ADAM, L. PRAT, S. JOLIVET, F. BARBUT

Evaluation de la dissémination des bactéries à partir des toilettes : résultats d'une étude expérimentale.

31ème Congrès de la Société Française d'Hygiène Hospitalière

Nantes, 4-6 octobre 2021 Communication orale

JOLIVET S, J COUTURIER, C GOUOT, G DHENIN, D NESA, C LAZARE, L BERAUD, C GINEVRA, G DESCOURS, M MOHTY, F BARBUT.

Transmission inattendue de légionellose nosocomiale en secteur protégé.

31ème Congrès de la Société Française d'Hygiène Hospitalière

Nantes, 4-6 octobre 2021 Poster commenté

PETRY S., TAPPREST J., MAILLARD K., DUQUESNE F.KOZAK S., LE NEINDRE K ., BARBUT F., BRIDOUX L. ET POQUET I.

Clostridioides difficile chez des équidés autopsiés :

Constitution et caractérisation de la collection de souches CloDifEqui

Congrès de la SFM, Nantes, 22-24 septembre 2021,

GASTLI N, POUS G, REZZAK-MULERO R, LEROY C, TOUNSI T, VILLENEUVE F, BOUSQUIE F, LESUEUR C, POYART C, FOURNIER S. et le réseau des équipes opérationnelles d'hygiène de l'AP-HP

Apports du dépistage salivaire itératif de la COVID chez les professionnels hospitaliers

41ème RICAI (live) 13-14 décembre 2021. Communication orale

GODMER A, LE NEINDRE K, LATAPY V, BASTIDE M, YOUSSEUF A, SYED ZAIDI R, AUBRY A, VEZIRIS N, BARBUT F, ECKERT C.

Discrimination des souches de *Clostridioides difficile* par MALDI-TOF MS

41ème RICAI (live) 13-14 décembre 2021. Poster 036

SYED-ZAIDI R., YOUSSEF A., LALANDE V., LE NEINDRE K., COUTURIER J., BARBUT F.

Prospective evaluation of the Sofia *C. difficile* FIA for simultaneous detection of *C. difficile* GDH and Toxin

41ème RICAI (live) 13-14 décembre 2021. Poster P024

LE NEINDRE K., DESLANDES A., SYED ZAIDI R., DUFRESNE M., BARBUT F.

Evaluation de l'efficacité du rayonnement UV-C sur les BHR et *Clostridioides difficile*

41ème RICAI (live) 13-14 décembre 2021. Communication orale.

4.4. Communications internationales

2017

AIRES J., COUTURIER J., FERRARIS L., SYED ZAIDI R., BARBUT F., BUTEL M-J.

Premature neonates and asymptomatic *Clostridium difficile* carriage: frequency, kinetics and isolates characterization

50th European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition.

Prague, République Tchèque, 10-13 Mai 2017 (communication orale 532).

KHANAFER N., VANHEMS P., BARBUT F., LUXEMBURGER C. and CDI01 STUDY GROUP

Factors associated with *Clostridium difficile* infection: a nested case-control study in a three-year prospective cohort.

27th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.

Vienne, Autriche, 22-25 avril 2017 (Poster P2037).

KHANAFER N., VANHEMS P., BARBUT F., DEMONT C. and CDI01 STUDY GROUP

Outcomes of diarrhea suspected to be related to *Clostridium difficile* in a French university hospital

27th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.

Vienne, Autriche, 22-25 avril 2017 (Poster P2038).

DAVIES K., DAVIS G., BARBUT F., ECKERT C., PETROSILLO N., PISAPIA R., REIGADAS-RAMIREZ E., BOUZA E., BERGER F., HERRMANN M., WILCOX M.

Multivariate analysis of factors affecting *Clostridium difficile* infection rates; the more you look, the more you find; but should you believe what you see?

27th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.

Vienne, Autriche, 22-25 avril 2017 (Communication orale OS0221).

KNIGHT DR, ANDROGA GO, BARBUT F, ECKERT C, JOHNSON S, SPIGAGLIA P, TATEDA K, TSAI PJ AND RILEY TV

Genomic and evolutionary analysis of *Clostridium difficile* sequence type 11: a genetically diverse lineage of significant One Health importance

Clostr Path 2017.

FAGNANI F, DUBURCQ A, GALPERINE T, VANHEMS P, LE MONNIER A, ALAMI S, BENSOUSSAN C, JEANBAT V, BARBUT F

Quality of life and utility decrement associated with *Clostridium difficile* infection in French acute care facilities.

20th ISPOR Annual European Congress

Glasgow, Scotland 4-8 Novembre (poster PIN78)

BARBUT F, GALPERINE T, VANHEMS P, LE MONNIER A, JEANBAT V, DUBURCQ A, FAGNANI F.

Impact of *Clostridium difficile* infection on patients' quality of life: a French Hospital prospective study

IdWeek 2017

San Diego, US, 4-8 Octobre 2017 (poster1283)

2018

COUTURIER J, GATEAU C. , LALANDE V., ECKERT C., BARBUT F.

Evaluation of a novel point-of-care diagnostic assay for detection of toxigenic *Clostridium difficile* strains.

28th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.

Madrid , Espagne , 21-24 avril 2017 (Poster #P493).

GATEAU C. , DEBOSCKER S., COUTURIER J., VOGEL T., SCHMITT E., MULLER J., MÉNARD C., TURCAN B., SYED ZAIDI R., YOUSSEF A., LAVIGNE T., BARBUT F.

Outbreak of *Clostridium difficile* PCR-ribotype 018 investigated by MLVA and wgMLST.

28th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.

Madrid , Espagne , 21-24 avril 2017 (Poster #P4869).

CASPAR Y., BARBUT F., LALANDE V, ECKERT C, WALLET F, GRANDBASTIEN B, BEMER P, GIBAUD S., BVACHEE A, TEISSIER G., ROUX AL, CHANARD E, GHOLIDAZEH J., VIEILLEFOND V., MAURIN M.

Prevalence of binary toxin-producing strains in *C. difficile* infections, France

28th ECCMID - Madrid, Espagne, 21-24 Avril 2018 (P 0373)

GATEAU C, GOUOT C, LAPIDUS N, COUTURIER J, LALANDE V, FOUSSADIER A, BANZ A, BARBUT F.

The SIMOA assay for detection of *Clostridium difficile* toxins has a better sensitivity than the cytotoxicity assay.

ICDS, Bled, Slovénie 12-14 septembre 2018

GATEAU C, COUTURIER J, BARBUT F.

Subtyping *Clostridium difficile* PCR-ribotype 018 strains by analysis of virulome, resistome, SNPs, wgMLST and MLVA.

ICDS, Bled, Slovénie, 12-14 septembre 2018.

2019

C0109- COUTURIER J, SYED ZAIDI, FOUQUET C, GATEAU C, ECKERT C, BARBUT F.

In situ comparison of sodium hypochlorite versus peracetic acid for eradicating *C. difficile* spores: results of a crossover prospective study.

29th ECCMID Amsterdam (Pays Bas) , 13-16 Avril 2019 (Poster)

2020

COUTURIER J, FRANCONERI L, JANOIR C, FERRARIS L, HOYS S, AIRES J, BARBUT F

Nontoxigenic *Clostridioides difficile* strains against *C. difficile* colonisation: an experimental study

30th ECCMID Paris (France) , 18-21 Avril 2020 (Communication orale acceptée mais congrès reporté)

GUILLEMARD E, POIREL M, SCHÄFER F, QUINQUIS L, ROSSONI C, KEICHER, FRANK WAGNER C, HANIA SZAJEWSKA H, BARBUT F, DERRIEN M, MALTERTHEINER P,
Multi-strain fermented milk promotes gut microbiota recovery after *Helicobacter pylori* therapy: a randomised, double blind, controlled trial.
International Scientific Conference on Probiotics, Prebiotics, Gut Microbiota and Health (Communication orale) N° IPC20-0061, 11/11/2020

LE MARECHAL C., L. MARTIN, C. GATEAU, T. POEZEVARA, J. COUTURIER, S. ROUXEL, M.MARAULT, R. SYED-ZAIDI, P. KOOH, O. FIRMESSE, M. CHEMALY, F. BARBUT
Detection and characterization of *Clostridioides difficile* isolated from animals in France
7th International *Clostridioides difficile* symposium (virtual)
Septembre 2020, Poster

2021

PETRY S.; TAPPREST J.; MAILLARD K.; DUQUESNE F.; KOZAK S.; LE NEINDRE K.; BARBUT F.; BRIDOUX L.; POQUET, I.
Clostridioides difficile in necropsied equidae, Isolation and characterisation of the CloDifEqui collection of Strains
11th International Equine Infectious Diseases Conference 2021
Dauville, France, 27 sept-1er Oct 2021.

2022

COUTURIER J., LEPAGE P., JOLIVET S., DELANNOY J., ANCEL P.Y., ROZE J.C, BUTEL M.J, BARBUT F., AIRES J.
Changes in the gut microbiota of preterm neonates according to *Clostridioides difficile* colonization
32nd European Congress of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 23-26 avril 2022.
Lisbonne, (communication orale)

LE NEINDRE K, DESLANDES A, SYED ZAIDI R, FAURY H, DUFRESNE M., ROUILLARD L., TAN C., FITUSSI K, BARBUT F.
Experimental evaluation of pulsed-xenon light disinfection on multi-drug resistant bacteria and spores of *Clostridioides difficile*.
32nd European Congress of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 23-26 avril 2022.
Lisbonne, (poster)

JOLIVET S, COUTURIE J.R, GROHS P, VILFAILLLOT A, ZAHAR JR, FRANGE P, CASETTA A, MOULIN V, LAWRENCE C., BAUNE P., BOURGEOIS C., BOUFFIER A., LAUSSUCQ C., SIENZONIT L., PICARD S., PODGLAJEN I, KASSIS-CHIKHANI N., BARBUT F.
Prevalence and risk factors of toxigenic *Clostridioides difficile* asymptomatic carriage in eleven French hospitals
32nd European Congress of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 23-26 avril 2022.
Lisbonne, (poster)

GODMER A, LE NEINDRE K, LATAPY V., BASTIDE M., YOUSSEF A., SYED ZAIDI R., AUBRY A, VEZIRIS N, BARBUT F, ECKERT C.,
Discrimination of *Clostridioides difficile* strains by MALDI-TOF MS
32nd European Congress of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 23-26 avril 2022.
Lisbonne, (poster)

4.5. Conférences sur invitations

Conférences nationales

BARBUT F.,

Actualités dans le diagnostic des ICD

Symposium « Prise en charge des infections à *Clostridium difficile* : du nouveau pour faire barrage aux récurrences »

18^{ème} Journées Nationales d'Infectiologie

Saint-Malo, 21-23 juin 2017

BARBUT F.,

Poids de l'infection en France et dans le monde

Symposium « Nouveaux enjeux dans la prise en charge de l'ICD »

18^{ème} Journées Nationales d'Infectiologie

Saint-Malo, 21-23 juin 2017.

BARBUT F.

Place de la transplantation de microbiote fécal (FMT) dans les infections à *Clostridium difficile*

Journées Alain Feuillu

Saint-Malo, 4 mars 2017

BARBUT F.

Actualités sur *Clostridium difficile*

XIII^{ème} journées de Microbiologie clinique

Paris, 14 septembre 2017

BARBUT F.

Transplantation de microbiote fécal (FMT) dans les infections à *Clostridium difficile*

Congrès de la société française de microbiologie

Paris, 9-11 octobre 2017.

BARBUT F.

Poids de l'infection à *C. difficile* à travers le monde

19^{ème} journée régionale d'hygiène hospitalière

Clermont Ferrand, 13 octobre 2017

BARBUT F.

Diagnostic, prévention et traitement de l'infection à *C. difficile*

19^{ème} journée régionale d'hygiène hospitalière

Clermont Ferrand, 13 octobre 2017

BARBUT F.

Epidémiologie et diagnostic des infections à *Clostridium difficile*

Journées d'échanges des réseaux ATB et BMR sud est

CePIAS auvergne Rhine Alpes,

Lyon, 10 novembre 2017

BARBUT F.

Infections à *C. difficile* et immunodépression

16^{ème} journée du Groupe Transplantation et Infection

Paris, 18 mai 2018

BARBUT F.

Récidives d'infections à *C. difficile* : peut-on les prévenir
Colloque « Prévenir le risque infectieux chez l'immunodéprimé »
Lyon, 28 mars 2018

BARBUT F.
Clostridium difficile : nouveautés épidémiologiques et diagnostiques
39e Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie anti infectieuse, 2019, Paris 16-17 décembre 2019.

BARBUT F.
Mise en Place de la Transplantation de Microbiote Fécal (TMF): aspects pratiques
30^{ème} Congrès de la Société Française d'Hygiène Hospitalière
Strasbourg, 5-7 juin 2019

BARBUT F.
Actualités sur les infections à *C. difficile*
3^{ème} journée de Biologie médicale
Monaco, 6-8 novembre 2019

BARBUT F.
Actualités sur les infections à *Clostridioides difficile* (ICD)
Journée du collBVH
Paris, 21 juin 2019

BARBUT F.
Les différents aspects des infections à *Clostridioides difficile* (ICD)
Journée d'actualités physiopathologiques de Strasbourg
Strasbourg, 6 décembre 2019

BARBUT F.
Colites à *C. difficile*
Réanimation 2021.
Paris, 9 juin 2021.

Conférences internationales

BARBUT F.
Clinical and Economic Consequences of Recurrent CDI
25th UEG (United European Gastroenterology)
Barcelone (Espagne), 29 octobre -2 novembre 2017

BARBUT F.
Clostridium difficile: current threats
ESCMID summer school 2018, Paris
3 juillet 2018

BARBUT F.
Clostridium difficile: updates
Cepheid Championship Club, Chypre
20 octobre 2018

BARBUT F.
Diagnosis of *Clostridioides difficile* infection
La gestione terapeutica dell'infezione da *C. difficile*
Rome, Italie 17 juillet 2019

BARBUT F.
Pitfalls in *Clostridioides difficile* diagnosis
European Centers for Disease Control and Prevention meeting
Stockolm, Suède 22-23 may 2019

BARBUT F.
Clostridioides difficile infections: how to diagnose? How to treat?
Joint meeting of the SSI and SSHH
Geneva, 2-4 septembre 2020.

BARBUT F.
31th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.
Prospective evaluation of combined antigen testing for *Clostridioides difficile* GDH and toxin
27th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.
Vienne (Autriche), 9-12 juillet 2021 Online

BARBUT F.
Clostridioides difficile biological diagnosis : an update
IIIrd International Latin Americal *Clostridioides difficile* symposium
Bresil (visioconférence), 4 Octobre 2021

ANALYSE DES CAS DE BOTULISME DE 2021

Analyse des cas de botulisme humain de 2021

En 2021, le CNR a procédé au diagnostic biologique du botulisme humain à partir de 126 prélèvements de sérum, 68 selles et 24 échantillons alimentaires.

La présence de toxine botulique est recherchée dans le sérum ainsi que dans les échantillons d'aliment et selles par le test de létalité sur souris et de sero-protection à l'aide d'anticorps neutralisants spécifiques.

Clostridium botulinum est recherché dans les selles et les aliments suspects par culture d'enrichissement et PCR ciblée sur les gènes de neurotoxines, ainsi que par caractérisation des toxines produites selon un protocole développé au CNR. La détection de *Clostridium botulinum* directement dans l'échantillon par extraction d'ADN et PCR en temps réel permet de rendre un diagnostic en 3-4 heures après réception de l'échantillon ce qui est précieux pour une maladie dont l'efficacité du traitement est liée à la rapidité d'administration après le début des symptômes ou pour identifier rapidement l'aliment contaminé et déclencher les éventuels retraits/rappels de produits. Le niveau de contamination n'étant pas toujours suffisant, cette approche est toujours doublée de la recherche de *Clostridium botulinum* après culture d'enrichissement. L'isolement des souches est entrepris pour chaque échantillon positif de façon à obtenir une caractérisation détaillée (NGS, antibiogramme, ...) des souches de *Clostridium botulinum* à l'origine de la maladie en France.

Le nombre de foyers et de cas de botulisme observés en France en 2021 est classique : 6 foyers confirmés (et 2 foyers suspects) impliquant 7 patients (et 3 cas suspects). Tous les patients ont été hospitalisés dont 4 en service de réanimation.

Le botulisme infantile est cette année la forme majoritaire (3 foyers/3 cas) tandis que 2 foyers (3 cas) d'origine alimentaire ont été confirmés (et forte suspicion pour 1 foyer (2 cas) bien que non confirmé). Pour un foyer (1 cas) de botulisme de type A confirmé biologiquement, l'origine reste indéterminée.

Une suspicion clinique (1 cas) de botulisme iatrogène de type A n'a pas été confirmée biologiquement.

Description détaillée des foyers (Tableau 4)

Le premier foyer de botulisme alimentaire confirmé impliquant gravement 2 jeunes adultes était de type E12. De façon remarquable, ce sous type extrêmement rare a été décrit uniquement en France et précisément à Strasbourg à deux reprises. L'aliment à l'origine du premier foyer en 2009 était un jambon fumé artisanal, un hachis Parmentier de canard, également artisanal et local, est responsable du second foyer identifié en 2021.

Un second foyer d'origine alimentaire de type B2 a été confirmé chez un patient de retour d'un séjour en Italie où il avait consommé un sandwich contenant des fanes de navets à l'huile. L'alerte déclenchée par SpF via une notification EWRS a permis de lier ce cas à un foyer (2 cas) italien concomitant. En l'absence de restes disponibles pour analyse lors de l'inspection par les autorités sanitaires italiennes, les fanes de navets à l'huile ont été identifiés à l'origine de la contamination sur une base épidémiologique, les 3 patients ayant consommé ce sandwich typique de la région.

Les trois cas de botulisme infantile diagnostiqués en 2021 ont concernés deux petites filles de 6 mois et un nourrisson de 4 mois respectivement colonisés par *Clostridium botulinum* de type A2, B2 et B1. La première enfant était exclusivement allaitée par sa mère, sans consommation de miel ou de tisanes, ni d'éventuels travaux dans l'environnement proche. Les mêmes informations ont été collectées pour le petit garçon de 4 mois hospitalisé en réanimation dans un tableau de rhombocéphalomyélite aiguë. Le troisième bébé a développé une forme moins sévère de la maladie (Hypotonie, ptosis, troubles de la déglutition, constipation, paralysie modérée des membres) ne nécessitant pas de soins intensifs ; le CNR ne dispose pas de commémoratifs pour ce cas.

L'origine de ces cas, comme la majorité des cas de botulisme infantile, reste inexpliquée.

Un quatrième cas de botulisme infantile a été fortement suspecté chez un nouveau-né de six mois nourrit artificiellement et hospitalisé en réanimation sous ventilation assistée dans un tableau d'hypotonie axiale majeure. Il n'a pas été retrouvé de toxine botulique et/ou *Clostridium botulinum* dans le sérum, liquide gastrique et selles de l'enfant. Les réanimateurs s'orientaient ensuite vers un diagnostic différentiel de Guillain-Barré.

Diagnostic différentiel des affections avec un tableau de paralysie flasque et/ou de troubles dysautonomiques

En 2021, 11 demandes d'analyse de botulisme ont été réorientées vers un diagnostic de neuropathies auto-immunes (Guillain-Barré, Lambert-Eaton, Miller Fisher), de polyradiculonévrites ou de sclérose latérale amyotrophique. A la suite de nos résultats négatifs en identification de botulisme et évoquant une autre origine des paralysies et diminution des sécrétions (origine auto-immune ou autre), les analyses complémentaires menées par les laboratoires demandeurs permettent de confirmer un diagnostic autre. Cette année, quatre demandes nous ont été adressées par le Centre de Référence MIN Languedoc Roussillon dans le cadre d'une recherche de causes de mort inattendue du nourrisson (MIN). Ces analyses se sont à nouveau révélées négatives pour *Clostridium botulinum* et/ou toxine botulique (Tableau 5).

Recherche et titrage d'anticorps anti-toxine botulique A

La toxine botulique, essentiellement le type A, est largement utilisée dans le traitement de certaines affections neurologiques comme les dystonies. Certains sujets deviennent non-répondeurs à la toxine botulique par développement d'anticorps neutralisants (Tableau 10).

Neuf échantillons de sérum ont été analysés en 2021 ; deux neutralisaient l'activité de la toxine botulique de type A dans le test de létalité sur souris.

Botulisme agro-alimentaire et environnemental

Des aliments nous sont adressés dans le cadre de foyers avérés ou suspects de botulisme humain. Ces échantillons nous sont envoyés par les agents chargés des enquêtes d'hygiène alimentaire pour le compte des Agences Régionales de Santé et Directions Départementales de la Protection des Populations ou parfois sur réquisition de la Préfecture de Police ou du Tribunal lors d'enquête judiciaire. Occasionnellement, nous recevons des échantillons alimentaires ou environnementaux de la part d'industriels pour des contrôles de fabrication ou d'enquêtes sur le botulisme animal. Les résultats sont présentés aux Tableaux 6 à 9. En 2021, plusieurs prélèvements environnementaux (Carottes de Silo, Eau d'abreuvement, Compost, Végétation superficielle) réalisés dans le cadre de foyers de botulisme bovin et/ou aviaire se sont révélés positifs pour la toxine botulique et/ou *Clostridium botulinum* de type B, C/D ou D/C.

Botulisme animal

Le diagnostic du botulisme animal est généralement réalisé par les laboratoires vétérinaires départementaux ou régionaux ainsi que par le Laboratoire National de Référence (LNR) du botulisme aviaire de Ploufragan (ANSES) avec lequel nous collaborons étroitement. Les demandes d'analyse de botulisme animal que nous recevons proviennent de laboratoires vétérinaires départementaux ou privés et concernent essentiellement des confirmations d'examens réalisés en première intention, de typage de botulisme ou d'analyses de foyers et de cas litigieux en soutien au LNR. Notre rôle consiste principalement en une activité d'expertise basée sur des confirmations ou infirmations de premières

analyses et de détection/typage de toxine botulique par le test de létalité/séroprotection sur souris. Les analyses concernant le botulisme animal sont résumées au Tableau 11.

Botulisme bovin. Le botulisme bovin est endémique dans l'Ouest de la France depuis les années 1980. En 2021, un total de 35 échantillons (foie, rumen, contenu intestinal) représentant 6 foyers ont été analysés. Le diagnostic de botulisme a été de type mosaïque D/C a été confirmé dans 4 foyers (3 de type mosaïque D/C, 1 de type C lié à la présence d'un cadavre de chat dans le silo d'aliments du bétail). De façon peu commune, un foyer de botulisme de type C ou D/C a également été confirmé dans un élevage ovin dans l'Allier.

Botulisme des oiseaux sauvages. Chaque année en France et dans toute l'Europe occidentale, les oiseaux sauvages, en particulier les canards et autres oiseaux aquatiques, paient un lourd tribut au botulisme, essentiellement en saison chaude et sèche. En 2021, 10 échantillons représentant 6 foyers ont été analysés. Le botulisme a été confirmé dans 5 foyers de la faune sauvage. Les souches isolées de *Clostridium botulinum* correspondent toutes au type mosaïque C/D, c'est à dire possédant un gène de neurotoxine hybride entre les types C et D (Tableau 11). Les souches de *Clostridium botulinum* mosaïque C/D sont distinctes de celles de type D/C retrouvées chez les bovins.

Botulisme des oiseaux d'élevage. Le botulisme est également fréquent dans les élevages industriels de volailles (poulets, dindes, canards...). Outre les pertes économiques, parfois très importantes en élevage, le botulisme aviaire représente un risque de santé humaine. Le CNR n'intervient maintenant que très rarement pour le diagnostic des oiseaux d'élevage, celui-ci étant assuré par le LNR. En 2021, 5 échantillons provenant de 3 élevages ont été analysés. Le botulisme n'a été confirmé pour aucun.

TABLEAU 1

Répartition des souches d'origine humaine par genre et espèces

Période du 01/01/2021 au 31/12/2021

22 genres, 36 espèces, 3 espèces non nommées

Genre	Nombre (Espèce)
<i>Actinomyces</i>	3 (<i>ihuae</i> (1), <i>israelii</i> (1), <i>sp.</i> (1))
<i>Anaerobiospirillum</i>	2 (<i>succiniproducens</i> (1), <i>sp.</i> (1))
<i>Atopobium</i>	1 (<i>massiliense</i>)
<i>Bacillus</i>	2 (<i>cereus</i>)
<i>Bacteroides</i>	28 (<i>cellulosilyticus</i> (1), <i>fragilis</i> (18), <i>heparinolyticus</i> (1), <i>ovatus</i> (1), <i>thetaiotaomicron</i> (5), <i>xylanisolvans</i> (1))
<i>Butyrivimonas</i>	1 (<i>sp.</i>)
<i>Capnocytophaga</i>	2 (<i>canimorsus</i>)
<i>Clostridium</i>	31 (<i>argentinense</i> (1), <i>baratii</i> (1), <i>beijerinckii</i> (1), <i>botulinum</i> (7), <i>perfringens</i> (15), <i>sordellii</i> (1), <i>subterminale</i> (1), <i>tertium</i> (2), <i>tetani</i> (1))
<i>Clostridioides</i>	1 (<i>difficile</i>)
<i>Cutibacterium</i>	1 (<i>acnes</i>)
<i>Desulfovibrio</i>	1 (<i>fairfieldensis</i>)
<i>Eggerthella</i>	1 (<i>lenta</i>)
<i>Erysipelatoclostridium</i>	2 (<i>ramosum</i>) ex <i>Clostridium ramosum</i>
<i>Finegoldia</i>	1 (<i>magna</i>)
<i>Fusobacterium</i>	1 (<i>necrophorum</i> subsp. <i>fundiliforme</i>)
<i>Hungatella</i>	1 (<i>xylanolytica</i>)
<i>Oscillibacter</i>	1 (<i>ruminantium</i>)
<i>Paenibacillus</i>	1 (<i>odorifer</i>)
<i>Parvimonas</i>	2 (<i>micra</i>)
<i>Peptostreptococcus</i>	3 (<i>anaerobius</i>)
<i>Prevotella</i>	3 (<i>bivia</i>)
<i>Veillonella</i>	4 (<i>parvula</i>)

TABLEAU 2

Répartition des souches d'origine humaine par site d'infection

Période du 01/01/2021 au 31/12/2021

LOCALISATION	FREQUENCE
Hémoculture	39
Coproculture	27
Infection ostéo-articulaire	3
Infections cutanées et musculaires (abcès, suppurations, gangrènes)	7
Infection intra-abdominale	7
Gynécologie	2
Appareil digestif	9
Urologie/néphrologie	1
Appareil respiratoire	2
Système nerveux central	3
Non précisé	5
Total	105

Tableau 3

Profils de résistance (Nombre de souches R) des bactéries anaérobies reçues ou isolées en 2021

Antibiogramme standard réalisé selon les recommandations du Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM)

Bactéries à Gram +

N = 50 souches

[illegible]

Bactéries à Gram -
N = 48 souches

Espèce	Nombre de souches testées	Métronidazole 5 µg	Amoxicilline 20 µg	Amoxicilline + acide clavulanique 20/10 µg	Imipénème 10 µg	Clindamycine 2 µg	Rifampicine 30 µg	Chloramphénicol 30 µg	Moxifloxacine 5 µg	Pipéracilline- tazobactam 30/6 µg	Linézolide 30 µg	Tigécycline 15 µg
<i>Anaerobiospirillum sp.</i>	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Anaerobiospirillum succiniproducens</i>	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Bacteroides caccae</i>	1	0	0*	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Bacteroides cellulosilyticus</i>	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0
<i>Bacteroides fragilis</i>	20	2	17*	9	5	11	1	1	8	5	1	1
<i>Bacteroides ovatus</i>	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Bacteroides pyogenes</i>	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	6	2	6*	0	1	4	0	0	0	0	0	0
<i>Bacteroides xylanisolvens</i>	1	0	1*	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Butyricimonas sp.</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Capnocytophaga canimorsus</i>	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Fusobacterium necrophorum</i> <i>subspecies funduliforme</i>	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
<i>Fusobacterium necrophorum</i> <i>subspecies necrophorum</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
<i>Fusobacterium sp.</i>	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Oscillibacter ruminantium</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Prevotella bivia</i>	3	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0
<i>Veillonella parvula</i>	4	2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0

TABLEAU 4
Nombre de foyers et de cas de botulisme humain
Période du 01/01/2021 au 31/12/2021

Foyer	Nombre de cas	Autres prélèvements biologiques	Aliment suspect/Source potentielle contamination
NICE Suspicion? botulisme alimentaire	1	2021/00119: Selles négatif (< 10 DL/g)	2021/00100: Conserve d'olives maison (< 1 DL/ml) Lait fermenté industriel (non reçu pour analyse)
BORDEAUX Botulisme infantile Type A2	1	2021/00145: Selles A+ (20 000 DL/g)	Allaitement maternel exclusif. Pas de notion de consommation de miel. La maman signale avoir modifié ses produits d'hygiène et utiliser depuis 15 jours (soit 5 jours avant le début des symptômes) un savon solide acheté sur internet « fabrication artisanale à la main » près de Marseille.
STRASBOURG Botulisme alimentaire Type E12	2	2021/00450: <u>Sérum congelé</u> (< 1 DL/ml) 2021/00434: Liquide gastrique E+ (< 1 DL/ml) 2021/00451: <u>Sérum congelé</u> (< 1 DL/ml) 2021/00460: Selles E+ (< 10 DL/g)	2021/00436: Tomatocoulis 2021/00437: Purée de Pomme de Terre 2021/00438: Epices Tandoori 2021/00439: Persil 2021/00440: Plat à gratin avec restes 2021/00441: Boite de thon avec restes E+ (< 10 DL/ml) 2021/00442: Emballage vide jambon de Bayonne 2021/00443: Assiette sale 2021/00444: Boites de ketchup 2021/00445: Sachet non ouvert mayonnaise 2021/00452: Hachis parmentier même lot que celui consommé 2021/00453: Hachis parmentier même lot que celui consommé 2021/00454: Hachis parmentier même lot que celui consommé 2021/00469: Barquette vide hachis parmentier consommé E+ (< 20 DL/ml)

Foyer	Nombre de cas	Autres prélèvements biologiques	Aliment suspect/Source potentielle contamination
CLERMONT-FERRAND Suspicion Botulisme alimentaire	2	2021/00457: Sérum (non analysé/plus tardif que 2021/00456) 2021/00459: Sérum (non analysé/plus tardif que 2021/00458) 2021/00465: Selles négatif (< 12 DL/g)	2021/00472: Pâte de curry vert consommée 2021/00473: Pâte de curry tikka massala consommée 2021/00474: Houmous maison consommé 2021/00475: Nems maison consommés 2021/00476: Fromage consommé 2021/00477: Pâte de curry vert non ouvert/même lot
CHALON S/SAONE Botulisme alimentaire? Type A	1	2021/00482: Selles négatif (< 10 DL/g) 2021/00484: Sérum négatif 2021/00485: Selles non analysées (2021/00482 nég)	2021/00490: Miel blanc artisanal du Kirghizistan acheté à Nice consommé depuis 1 an.
ORLEANS Exposition en Italie Botulisme alimentaire Type B2	1	2021/00593: Ecouvillon rectal B+ 2021/00633: Selles négatif	Exposition en Italie. Sandwich aux fanes de navet à l'huile. Pas de restes disponibles pour analyse par les autorités locales. Notificatin EWRS: 2 autres cas concomitants en Italie lié à la consommation de ce sandwich typique de la région Lecce.
SAINT GERMAIN EN LAYE (Résidence habituelle Vaucluse) Botulisme infantile Type B1	1	N/A	Tableau de rhombencéphalomyélite aigue apparue brutalement le 09/08/21. Allaitement maternel. Pas de travaux/Pas de poussières (il a beaucoup plus). Pas de Miel/Nourri au sein sauf qq biberons le soir. Gel sur tétine pour maux de ventre.
REIMS Botulisme infantile Type B2	1	2021/00629: Selles B+ (<10 DL/g)	DDS le 10/09/21: Hypotonie, ptosis bilatéral, troubles déglutition, paralysie des membres modérés, constipation.
COLOMBES puis Robert Debré Suspicion botulisme infantile => Guillain Barré	1	2021/00748: Liquide gastrique (< 2 DL/ml) 2021/00750: Ecouvillon rectal 2021/00753: Selles (<20 DL/g)	Troubles digestifs (diarrhées, crampes) évoluant vers hypotonie axiale majeure, PL normale. Diversification alimentaire (purées, compotes essentiellement industrielles). Notion de consommation de miel (tenu à disposition pour analyse par la famille). Il n'a pas reçu d'antitoxine botulique mais un traitement Ivlg (diag semble s'orienter vers un GB)
DIJON Suspicion Botulisme iatrogène	1	N/A	N/A

TABLEAU 5

Suspicion de neuropathies auto-immunes et autres diagnostics différentiels

Période du 01/01/2021 au 31/12/2021

Type	Nombre
Mort inattendue du nourrisson	4
Guillain Barré/LambertEaton/Miller Fisher	5
Suspicion	2
Sclérose Latérale Amyotrophique	1
Polyradiculonévrite/Meningoencephalite	3
Total	15

TABLEAU 6

Botulisme : échantillons alimentaires et environnementaux reliés à une suspicion de botulisme ou de neuropathie

Période du 01/01/2021 au 31/12/2021

Numéro de dossier	Laboratoire	Echantillon	Nombre	Type	Echantillon positif	Titre en toxine (DL/g)	Souche isolée
2021/00100	HÔPITAL DE NICE	CONSERVES D'OLIVES MAISON	1	Suspicion	0	N/A	N/A
2021/00177	LABORATOIRE NATIONAL	BOITE DE SARDINES CONSOMMEES	2	Suspicion Luxembourg	0	N/A	N/A
2021/00178	DE SANTE DU LUXEMBOURG	BOITE DE SARDINES MEME LOT					
2021/00436	DDPP DU BAS-RHIN	TOMATOCOULIS	14	E12	2 (Contamination suspectée de la boîte de thon dans la poubelle car 1/2 patient n'a pas consommé de thon)	N/A	N/A
2021/00437		PUREE DE POMMES DE TERRE					
2021/00438		EPICES TANDOORI					
2021/00439		PERSIL					
2021/00440		PLATS A GRATIN AVEC RESTES					
2021/00441		RESTES DE LA BOITE DE THON				< 10 DL/g	<i>Clostridium botulinum</i> type E12 2021/00604 <i>Bacillus paramycoides</i> 2021/00602
2021/00442		EMBALLAGE CHARCUTERIE JAMBON BAYONNE				N/A	N/A
2021/00443		ASSIETTE SALE					
2021/00444		BOITE KETCHUP					
2021/00445		SACHET MAYONNAISE NON OUVERT					
2021/00452		HACHIS PARMENTIER MEME LOT					
2021/00453		HACHIS PARMENTIER MEME LOT					
2021/00454		HACHIS PARMENTIER MEME LOT					
2021/00469	HÔPITAL STRASBOURG	BARQUETTE VIDE HACHIS PARMENTIER CONSOMME				< 20 DL/g	<i>Clostridium botulinum</i> type E12 2021/00616
2021/00472	TERANA PUY DE DOME	PATE DE CURRY VERT CONSOMME	6	Suspicion	0	N/A	N/A
2021/00473		PATE DE CURRY TIKKA MASALA					
2021/00474		HOUMOUS MAISON					
2021/00475		NEMS MAISON					
2021/00476		FROMAGE AU LAIT PASTEURISE A PATE MOLLE					
2021/00477		PATE CURRY VERT MEME LOT					
2021/00490	DDPP 71 - MACON	MIEL BLANC DU KIRGHIZISTAN	1	Suspicion	0	N/A	N/A
TOTAL ECHANTILLONS ANALYSES EN 2021			24		2		

TABLEAU 7

BOTULISME : Echantillons agro-alimentaires alimentation humaine (non reliés à une suspicion de botulisme)

Période du 01/01/2021 au 31/12/2021

BOTULISME/ Echantillons agro-alimentaires alimentation humaine (non reliés à une suspicion de botulisme)									
Nombre	Toxine après			TYPE					
	Extraction	Culture	PCR	A	B	C	D	E	F
45	0	0	0	0	0	0	0	0	0

TABLEAU 8

BOTULISME : Echantillons agro-alimentaires (alimentation animale)

Période du 01/01/2021 au 31/12/2021

BOTULISME/ Echantillons agro-alimentaires (alimentation animale)									
Nombre	Toxine après			TYPE					
	Extraction	Culture	PCR	A	B	C/D	D	E	F
100	1	1	1	0	1*	0	0	0	0

2021/0011: Carottes de silo

TABLEAU 9

BOTULISME : Echantillons environnementaux
Période du 01/01/2021 au 31/12/2021

BOTULISME/ Echantillons environnementaux									
Nombre	Toxine après			TYPE					
	Extraction	Culture	PCR	A	B	C ou C/D	D ou D/C	E	F
180	2*	N/A	15	0	0	8 ^μ	7 #	0	0

*Alerte Festival (n=1)
 Enquête ONCFS (n=1)

^μ Eaux d'abreuvement Guyane (n=2)
 Enquête ONCFS (n=6)

Alerte Festival (n=6)
 Denitral/lisiers (n=1)

TABLEAU 10

Recherche d'anticorps neutralisants dirigés contre la toxine botulique de type A
Période du 01/01/2021 au 31/12/2021

Recherche +	2
Recherche -	7
Non conformités	3
TOTAL	12

TABLEAU 11

BOTULISME ANIMAL
Répartition par espèce
Période du 01/01/2021 au 31/12/2021

ESPECE	Nombre total d'échantillons analysés		Foyers positifs - Type		Foyers négatifs	Nbre total de foyers analysés
OISEAUX SAUVAGES	10	15	5	C/D	1	6
OISEAUX ELEVAGE	5		0		3	3
BOVINS	35		3	D/C	2	6
			1	C		
OVINS/CAPRINS	16		1	C ou D/C	1	2
EQUINS	4		0		1	1
ZOO (Ibis; Oiseau échassier)	4		0		1	1
CHIENS	1		0		1	1
TOTAL	75		10		10	20