

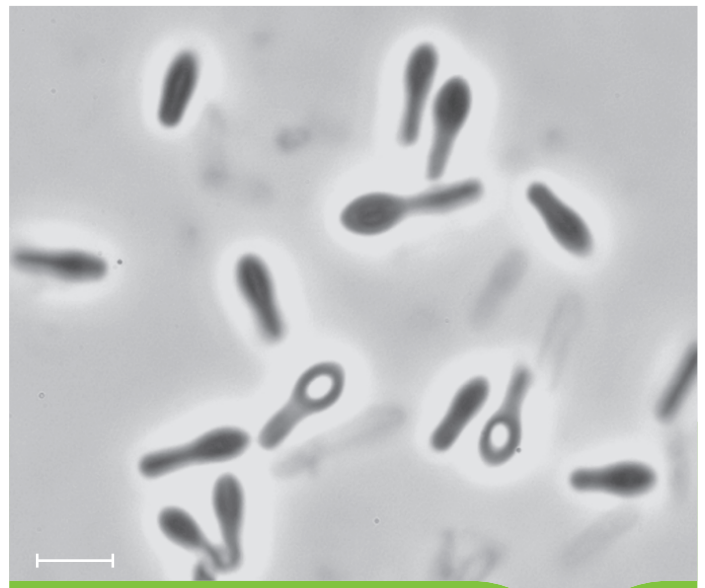
# *Clostridium botulinum*, *Clostridium* neurotoxinogènes

*Clostridium botulinum*, *Clostridium* neurotoxinogènes  
Famille des *Clostridiaceae*  
Bactérie

## Caractéristiques et sources des *Clostridium botulinum* et des *Clostridium* neurotoxinogènes

### Principales caractéristiques microbiologiques

Les *Clostridium botulinum* sont des bacilles à Gram positif, anaérobies stricts et sporulés. Les souches de *C. botulinum* sont très hétérogènes d'après leurs caractères culturels, biochimiques et génétiques et elles sont divisées en quatre groupes (Groupe I à IV). De plus, certaines souches atypiques, plus rarement isolées en Europe, et appartenant à d'autres espèces de *Clostridium*, sont neurotoxinogènes: *C. butyricum* (neurotoxine botulique E) et *C. baratii* (neurotoxine botulique F). A quelques exceptions près, chaque souche produit un seul type de toxine botulique. Les toxines botuliques se divisent en 7 types (A à G) selon leurs propriétés immunologiques, chacune étant neutralisée par un sérum spécifique. De plus, selon leurs séquences en acides aminés, des sous types sont identifiés dans chaque type de toxine botulique (Tableau 1).



*C. botulinum* type A. © M. Popoff

Tableau 1. Caractéristiques de survie, de croissance et de toxinogénèse des *C. botulinum*

	<i>C. botulinum</i> Groupe I Protéolytiques			<i>C. botulinum</i> Groupe II Non protéolytiques			<i>C. botulinum</i> Groupe III Non protéolytiques			<i>C. botulinum</i> Groupe IV Protéolytique		
<b>Toxines</b>	A, B, F			B, E, F			C, D			G		
Sous-types de toxines	A1, A2, A3, A4, A5, B1, B2, B3, bivalent B (Ba, Bf, Ab), proteolytic F			E1, E2, E3, E6, non proteolytic B, F			C, D, C/D, D/C			G		
<b>Bactéries apparentées non toxinogènes</b>	<i>C. sporogenes</i>			Pas de nom d'espèces			<i>C. novyi</i>			<i>C. subterminale</i>		
<b>Croissance cellules végétatives</b>	Min.	Opt.	Max.	Min.	Opt.	Max.	Min.	Opt.	Max.	Min.	Opt.	Max.
Température (°C)	10	35-40	48	3	18 - 25	45	15	37 - 40		/	37	/
pH	4,6	/	9,0	5,0	7,0	9,0	5,1	6,1 - 6,3	9,0	4,6	7,0	/
a <sub>w</sub>	0,94	/		0,97	/	/	0,97	/		0,94	/	/
% NaCl inhibant la croissance	10			5								
<b>Production toxines</b>												
Température min (°C)	10			3			15			/		
a <sub>w</sub> min	0,94			0,97			0,97			0,94		
<b>Stabilité et inactivation des toxines</b>	Les toxines résistent à la congélation (activité de la toxine préformée dans l'aliment non réduite par la congélation). Détruites après 10 min à 100 °C ou 30 min à 80 °C.											

## Sources du danger

Le réservoir de *C. botulinum*, comme des autres *Clostridium* est l'environnement : sol, poussière, sédiments marins ou d'eau douce, eaux souillées, lisiers, et occasionnellement le contenu digestif de l'Homme et des animaux asymptomatiques.

Le botulisme est une maladie humaine et animale mais il n'y a pas de transmission directe documentée entre un animal atteint de botulisme et l'Homme. Par ailleurs, il n'existe pas de lien épidémiologique démontré entre les foyers de botulisme humain et les foyers de botulisme animal.

Le botulisme animal concerne essentiellement les oiseaux et les bovins et est le plus souvent dû aux types C ou D. En particulier, les oiseaux et les visons sont très sensibles au type C, les bovins au type D. Le botulisme de type D se rencontre aussi chez les palmipèdes. Les poissons des mers du Nord, notamment de la Baltique sont fréquemment des porteurs asymptomatiques de *C. botulinum* E dans leur tube digestif. Le botulisme sous forme clinique chez le porc est rare, mais *C. botulinum* B se retrouve dans le tube digestif de porcs asymptomatiques. Les sources de contamination de l'animal sont alimentaires et les mesures de prévention consistent en la maîtrise de la contamination des aliments pour animaux et le retrait régulier des cadavres.

## Voies de transmission

La maladie n'est pas transmissible entre individus, mais résulte le plus souvent d'ingestion d'un aliment contaminé. Trois formes de botulisme peuvent être distinguées selon le mode de contamination.

**L'intoxication botulique** est due à l'ingestion de toxine botulique préformée dans un aliment. C'est la forme la plus fréquente chez l'adulte.

**La toxi-infection botulique** causée par l'ingestion de bactéries et/ou spores de *C. botulinum*. Cette forme a été observée chez des jeunes enfants (0-12 mois, botulisme infantile), suite à l'ingestion de miel ou par inhalation de poussières contaminées par des spores de *C. botulinum*. Le botulisme par toxi-infection est aussi observé chez des adultes (cf. maladie humaine).

**Le botulisme par blessure** est causé par l'inoculation des spores de *C. botulinum* dans une plaie. Des cas de botulisme iatrogènes ont été rapportés suite à l'injection de toxine botulique à des fins thérapeutiques ou cosmétologiques.

## Maladie humaine d'origine alimentaire

### Nature de la maladie (Tableau 2)

Le botulisme se caractérise par des paralysies flasques, symétriques, sans atteinte du système sensoriel. Les types de botulisme A, B et E sont les plus fréquents chez l'Homme. La gravité des signes cliniques dépend de la quantité de toxine botulique absorbée et du type de toxine, le botulisme de type A étant le plus grave avec insuffisance respiratoire d'installation plus rapide et plus sévère que dans les autres types de botulisme.

**Population sensible<sup>(1)</sup>** : tous les individus sont susceptibles de développer une intoxication botulique suite à l'ingestion de la toxine préformée dans un aliment.

Les nourrissons (< 12 mois) en raison de leur flore intestinale, incomplètement constituée ou incomplètement fonctionnelle, sont sensibles à une toxi-infection botulique, par germination, multiplication de *C. botulinum* dans l'intestin et production de toxine *in situ*. Le botulisme par toxi-infection est aussi observé chez les adultes ayant subi une chirurgie digestive ou atteints de carcinomes intestinaux, de lésions chroniques de la muqueuse intestinale, d'anomalies anatomiques ou fonctionnelles de l'intestin, d'inflammation chronique, ou après une antibiothérapie.

### Relations dose-effet<sup>(2)</sup>

La toxine botulique est à ce jour considérée comme le poison le plus puissant qui existe. La toxine botulique A est la plus active. La dose létale chez un homme adulte est estimée à 100 ng – 1 µg par voie parentérale et 70 µg par voie orale (1 µg par kg).

Les effets sont fonction de la concentration en toxine ou de la teneur en bactéries/spores de *C. botulinum*. Plus la quantité de toxine ingérée est élevée, plus la maladie est d'apparition rapide et sévère. En général, l'ingestion unique de quelques grammes d'aliment contenant de la toxine botulique est suffisante pour déclencher un botulisme. Chez un nouveau-né ou un jeune enfant, l'ingestion d'une dizaine à une centaine de spores est capable de causer une toxi-infection, ce qui peut représenter des quantités aussi faibles que quelques mg d'aliment comme le miel ou quelques poussières.

## Épidémiologie

En France, depuis 1991, le nombre médian de cas déclarés à l'InVS (suspects et confirmés) est de 28 avec une étendue de 8 à 44. La moyenne annuelle est de 26. Dans la période 2007-2009, 43 cas de botulisme ont été confirmés, dix cas, dont quatre de botulisme infantile, étaient des formes sévères ayant nécessité des soins intensifs prolongés. Les deux derniers cas mortels ont été observés en 1997 et 2010.

Les foyers sont majoritairement associés à la toxine de type B. Les produits à l'origine des foyers alimentaires survenus en France sont les produits de charcuterie et les conserves de végétaux de fabrication familiale ou artisanale et exceptionnellement des produits industriels (2 cas en 2008).

L'incidence du botulisme dans les autres pays est variable et dépend de nombreux facteurs tels que les habitudes alimentaires, ou la prévalence de *C. botulinum* dans l'environnement. Aux États-Unis, le botulisme infantile est la forme de botulisme prédominante, alors qu'au Royaume-Uni le botulisme par blessure chez les utilisateurs de drogue est préoccupant.

(1) Population sensible : les personnes ayant une probabilité plus forte que la moyenne de développer, après exposition au danger par voie alimentaire [dans le cas des fiches de l'Anses], des symptômes de la maladie, ou des formes graves de la maladie.

(2) Relation entre la dose (la quantité de cellules microbiennes ingérées au cours d'un repas) et l'effet chez un individu.

Tableau 2. Caractéristiques de la maladie

Durée moyenne d'incubation	Principaux symptômes	Complication
1-10 jours 1-3 jours le plus souvent	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Troubles digestifs (vomissements, diarrhée) observés de façon inconstante en début d'évolution (environ 30-50%)</li> <li>• Constipation fréquente en fin d'évolution (20-70%)</li> </ul>	Mortalité par insuffisance respiratoire (5-10%, jusqu'à 25% selon la prise en charge médicale)
<b>Durée des symptômes</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Paralysie des muscles de l'accommodation : vision floue, diplopie, mydriase (70-100%)</li> <li>• Paralysies au niveau buccal : sécheresse de la bouche, difficultés de déglutition et d'élocution (80-100%)</li> <li>• Formes les plus graves : paralysies des membres (faiblesse des membres à paraplégie) et des muscles respiratoires (50-80%)</li> </ul>	
Quelques jours à 8 mois		
<b>Population cible</b>	<b>Formes asymptomatiques</b>	
Cosmopolite, toutes classes d'âge	Non, Possibilité de formes frustes (troubles visuels et/ou troubles de la déglutition)	

# Rôle des aliments

## Principaux aliments à considérer

Les matières premières alimentaires sont contaminées par des bactéries/spores de *Clostridium* neurotoxigènes à partir de l'environnement (cf. sources du danger). Certaines denrées peuvent être contaminées par l'intermédiaire d'épices ou de condiments (poivre, ail, etc.).

Les conditions de préparation et de conservation des denrées déterminent ensuite une éventuelle germination des spores, la croissance des bactéries ainsi que la toxigénèse. La présence de toxine botulique dans les aliments manufacturés peu acides est souvent due à un défaut de maîtrise du procédé (contrôle de la température de cuisson/stérilisation ou de la température de conservation, contrôle insuffisant du pH et de l' $a_w$ , fuites de l'emballage). La toxine botulique est stable dans les aliments sur une longue période.

Les aliments à risque pour le consommateur sont des aliments conservés peu acides. Les aliments le plus souvent impliqués dans les foyers de botulisme sont des conserves familiales ou des produits de fabrication artisanale tels que :

- mortadelle, jambon cru salé et séché, charcuteries (saucisses, pâtés) (toxine de type B);
- conserves de végétaux (asperges, haricots verts, carottes et jus de carotte, poivrons, olives à la grecque, potiron, etc.), salaisons à base de viande de bœuf (toxine de type A);
- poisson salé et séché, marinades de poisson, poisson ou viande de phoque fermenté, emballé sous vide (toxine de type E).

Le miel contaminé par des spores de *C. botulinum* est le seul aliment connu pour la transmission du botulisme infantile.

## Traitements d'inactivation en milieu industriel

Désinfectants	Hautes pressions
Les spores sont sensibles à la majorité des désinfectants autorisés en IAA, sous réserve de suivre les modalités d'utilisation recommandées. Les composés chlorés sont les agents chimiques les plus actifs. Les spores de <i>C. botulinum</i> A, B et E sont inactivées à des concentrations de 4,5 ppm (m/v) de chlore libre (pH 6,5).	Les spores de <i>C. botulinum</i> sont très résistantes à la pression. Les spores peuvent être inactivées par la combinaison d'un traitement thermique et d'un traitement par hautes pressions.
	Ionisation
	Valeur de $D_{10}^{(3)}$ pour les spores (traitements sur aliments congelés): $D_{10}(T^{\circ}C \leq -18) = 2 - 4,5$ kGy (Groupe I) $D_{10}(T^{\circ}C \leq -18) = 1,0 - 2,0$ kGy (Groupe II)

### Effets de la température

La thermorésistance de *C. botulinum* varie entre groupes et au sein des groupes. En ce qui concerne les groupes I et II, un consensus international définissant des barèmes conférant un niveau de sécurité acceptable est établi.

Les souches protéolytiques du groupe I possèdent les spores les plus thermorésistantes, les souches non protéolytiques du groupe II sont les plus thermosensibles.

Tableau 3. Valeurs de  $D^{(4)}$  et  $Z^{(5)}$  pour les spores de *C. botulinum*

<i>C. botulinum</i> Groupe I	<i>C. botulinum</i> Groupe II	<i>C. botulinum</i> Groupe III	<i>C. botulinum</i> Groupe IV
$D_{121,1^{\circ}C} = 0,21$ min	$D_{80^{\circ}C} = 0,6-1,25$ min*	$D_{104^{\circ}C} = 0,1-0,9$ min*	$D_{104^{\circ}C} = 0,8-1,12$ min*
$Z = 10^{\circ}C$			

\* Variable selon les souches. Les spores sont résistantes à la congélation.

## Surveillance dans les aliments

Il n'existe pas de critère spécifique dans la réglementation européenne pour *C. botulinum* dans les aliments. Il n'existe pas de méthode normalisée pour la détection de *C. botulinum*. La détection de *C. botulinum* est basée sur la recherche de toxine (test *in vivo*, ELISA, test d'activité enzymatique) et la mise en évidence de la bactérie par culture d'enrichissement suivie de détection de toxine et/ou des gènes codant pour les neurotoxines (PCR essentiellement). La recherche de *C. botulinum* dans les aliments n'est pas un examen approprié en routine, car la recherche de la toxine ne peut se faire que dans des conditions de sécurité particulières.

### Recommandations aux opérateurs

- Appertisation des conserves non acides: tout produit de pH égal ou supérieur à 4,5 doit être soumis à un traitement garantissant une efficacité stérilisatrice (valeur stérilisatrice<sup>(6)</sup>  $F_{121,1}^{10} \geq 3$  min) adéquate contre les spores de *C. botulinum*. Les barèmes de stérilisation sont fonction de la nature du produit et de son contenant.
- Respect des recommandations de l'ACMSF pour éviter un développement de *C. botulinum*, en particulier du groupe II (psychrotrophes), dans les produits peu acides ayant subi ou non un traitement thermique minimal et distribués réfrigérés.
- Salaisons: le NaCl (10%) avec les nitrites (150 mg/kg) sont les additifs les plus efficaces pour inhiber la croissance de *C. botulinum*. L'activité de l'eau est également un facteur à maîtriser.
- Étiquetage préventif concernant la consommation du miel par le nourrisson de moins de 12 mois.

## Hygiène domestique

### Recommandations aux consommateurs

- Hygiène de la préparation des aliments à conserver (nettoyage soigneux des végétaux, hygiène de l'abattage des animaux à la ferme et de la préparation des viandes, propreté des récipients ou des emballages).
- Respect des consignes de stérilisation des fabricants (températures/temps, nombre d'unités de conserves par stérilisateur). Une cuisson par ébullition est insuffisante pour stériliser les denrées alimentaires.
- Les boîtes de conserves déformées/bombées et celles dégageant une odeur suspecte à l'ouverture ne doivent pas être consommées. Les légumes contaminés par la toxine botulique ne dégagent pas d'odeur spécifique.
- Pour les jambons de préparation familiale, il est impératif de respecter les concentrations en sel de la saumure et le temps de saumurage de façon à ce que les concentrations en NaCl et en nitrites inhibitrices de la croissance de *C. botulinum* atteignent le cœur du jambon.
- Le respect de la chaîne du froid est indispensable pour les préparations n'ayant pas subi de traitement thermique ou l'ayant subi à un niveau insuffisant.
- Pour les denrées du commerce, il est nécessaire de respecter les consignes de conservation au froid et les dates limites de consommation.
- Il ne faut pas faire consommer du miel aux nourrissons de moins de 12 mois.

(3)  $D_{10}$  est la dose (en kGy) nécessaire pour réduire une population à 10% de son effectif initial.

(4) D est le temps nécessaire pour diviser par 10 la population du danger microbiologique initialement présente.

(5) Z est la variation de température (°C) correspondant à une variation d'un facteur 10 du temps de réduction décimale.

(6) F<sub>0</sub>: durée en minutes d'un traitement thermique appliqué à cœur du produit à la température de référence de 121,1°C.

# Références et liens

## Références générales

- ACMSF (Advisory Committee on the Microbiological Safety of Food, UK) (1992). Report on vacuum packaging and associated processes. HMSO. London (UK).
- Afssa (2002). Rapport sur le botulisme d'origine aviaire et bovine.
- EFSA (2005). Opinion of the BIOHAZ panel related to *Clostridium* spp in foodstuffs. The EFSA Journal, 199: 1-65.
- ICMSF(International Commission on Microbiological Specifications for Foods)(1996). *Clostridium botulinum*. In: Roberts T.A, Baird Parker A. C., Tompkin R. B (Eds.) Micro-organisms in Foods 5: Microbiological Specifications of Food Pathogens, pp. 66-111. Blackie Academic and Professional, London.
- Peck M. W. (2009). Biology and genomic analysis of *Clostridium botulinum*. Advances in Microbial Physiology 2009, 55: 183-265.
- Popoff M. R., Carlier J. P., Poulain B. (2009). Botulisme, In: EMC (Ed.) Maladies Infectieuses, pp. 1-17. Elsevier Masson SAS, Paris.
- Popoff, M. R. (1995). Ecology of neurotoxicogenic strains of Clostridia. Current Topics in Microbiology and Immunology 195, 1-29.
- Smith, J.P. (1993). *Clostridium botulinum*-Ecology and control in foods. Haushchild H. W. and Dodds K.M. (Eds). Marcel Dekker, New York.
- Szabo E. A. et Gibson A. M. (2003). *Clostridium botulinum*, In: Hocking A. D. (Ed.) Foodborne Microorganisms of Public Health Significance. 6th edition, pp. 505-542. Australian Institute of Food Science and Technology Inc, NSW Branch.

## Liens utiles

- Centre national de référence des bactéries anaérobies et du botulisme, Institut Pasteur: <http://www.pasteur.fr/sante/clre/cadrecnr/anaer-index.html>
- [http://www.invs.sante.fr/publications/guides\\_biotox/guide\\_botulisme.html](http://www.invs.sante.fr/publications/guides_biotox/guide_botulisme.html)
- <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/who270/fr/index.html>
- <http://www.ctcpa.org>