



Les informations, opinions et recommandations contenues dans la présente fiche proviennent de sources dites fiables de la littérature et ne doivent être utilisées que comme des guides pour obtenir des données relatives au danger considéré, à la maladie provoquée, aux aliments impliqués et aux mesures d'hygiène et de maîtrise recommandées aux professionnels et aux particuliers. Ces fiches ne sauraient valoir comme procédés spécifiques de production.

Mai 2006

Clostridium botulinum, Clostridium neurotoxigènes Agent du Botulisme

A) Nature et habitat

• Principales caractéristiques microbiologiques

Les *Clostridium botulinum* sont des bacilles à Gram positif, anaérobie 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. De plus certaines souches atypiques et appartenant à d'autres espèces de *Clostridium*, sont neurotoxigènes. 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.

- GROUPE I : Bactéries protéolytiques, lipolytiques, fermentant glucose, fructose (+/-), maltose (+/-). La température de croissance optimale est de 35 à 40 °C, la température minimale de croissance et de toxigénèse est d'environ 10 °C. La thermorésistance des spores est élevée (elle sert de référence pour l'établissement des barèmes de stérilisation des conserves). Un chauffage à 121 °C pendant 3 min à coeur permet de réduire la population de spores de 10^{12} . Les toxines produites sont de type A, B, ou F. Les bactéries non toxigènes apparentées appartiennent à l'espèce *Clostridium sporogenes*.

- GROUPE II : *Clostridium* non protéolytiques, lipolytiques, glucidolytiques, (fermentant glucose, fructose, mannose, maltose, saccharose, tréhalose). La température de croissance optimale est de 18 à 25 °C, la température minimale de 3 °C et la température minimale de toxigénèse est de 6 °C. La thermorésistance des spores est relativement faible : un chauffage à 90 °C pendant 10 min permet de réduire la population de spores de 10^6 . Les toxines produites sont de type E, B, ou F. Il existe des souches non toxigènes apparentées aux *C. botulinum* de groupe II.

- GROUPE III : *Clostridium* non protéolytiques, lipolytiques, fermentant glucose, fructose (+/-), mannose, maltose (+/-). La température de croissance optimale est de 40 °C, la température minimale de croissance et de toxigénèse est d'environ 15 °C. Les spores sont thermorésistantes, capables de résister à des températures supérieures à 100 °C. Les neurotoxines produites sont de type C ou D. Les bactéries non toxigènes apparentées appartiennent à l'espèce *Clostridium novyi*.

- GROUPE IV ou *Clostridium argentinense* : *Clostridium* protéolytique, non lipolytique, non glucidolytique. La température de croissance optimale est de 37 °C. Les spores sont thermorésistantes. Seule la toxine du type G est produite par les bactéries de ce groupe IV. Les bactéries non toxigènes apparentées appartiennent à l'espèce *Clostridium subterminale*.

pH minimal de croissance 4,6-4,8 pour les protéolytiques, environ 5 pour les non protéolytiques.

pH maximal de croissance et de toxigénèse environ 8-9.

La valeur minimale de a_w permettant la croissance et la toxigénèse des *C. botulinum* protéolytiques est de 0,94, et 0,97 pour les non-protéolytiques, la valeur minimale permettant la germination des spores est 0,89.

- *Clostridium butyricum* est glucidolytique, non protéolytique, ne produit pas de lipase et de lécithinase. Certaines souches produisent une neurotoxine botulique de type E. Optimum de croissance entre 30-37 °C, intervalle 10-50 °C.

- *Clostridium baratii* est glucidolytique, non protéolytique, non lipolytique, produit une lécithinase et une neurotoxine de type F. Optimum de croissance entre 30-45 °C, intervalle 20-50 °C.

• Maladies animales.

Le botulisme est également une maladie des animaux, mais il n'y a pas de transmission directe documentée entre un animal atteint de botulisme et l'homme.

Le botulisme animal 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 sains de *C. botulinum* E dans leur tube digestif. *C. botulinum* B se retrouve également chez des porcs asymptomatiques.

- Réservoir, habitat

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

B) Maladie humaine

- Formes symptomatiques

Incubation 1-10 jours, le plus souvent 1-3 jours

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.

Les premiers signes sont des atteintes oculaires dues à une paralysie des muscles de l'accommodation : vision floue, diplopie, mydriase. Ils sont suivis par des paralysies au niveau buccal : sécheresse de la bouche, difficultés de déglutition et d'élocution. Dans les formes les plus graves, les paralysies atteignent les membres (faiblesse des membres à paraplégie) et les muscles respiratoires. La mort survient par insuffisance respiratoire.

Les troubles digestifs (vomissements, diarrhée) sont observés de façon inconstante en début d'évolution.

Toutes les classes d'âge sont indistinctement susceptibles.

Le botulisme se déclare sous forme de cas isolés ou de cas groupés.

- Modalités de contamination humaine

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 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 (0-9 mois, botulisme infantile) dans certaines régions du monde comme la partie Ouest des Etats Unis. La multiplication de *Clostridium* neurotoxino-gènes dans l'intestin s'accompagne de production de toxine in situ qui atteint ensuite les motoneurones. Une flore intestinale incomplètement constituée ou incomplètement fonctionnelle dans les premiers mois de la vie rend compte de la plus grande susceptibilité des jeunes enfants. Dans un tiers des cas, le botulisme infantile a été attribué à l'ingestion de miel, et dans un autre tiers à l'inhalation de poussières contaminées par des spores de *C. botulinum*. Le botulisme par toxi-infection est aussi observé chez des adultes. Une chirurgie digestive ou des cancers intestinaux sont des causes favorisantes de toxi-infection.

Le botulisme par blessure se déclare à la suite d'inoculation de bactéries et/ou spores de *C. botulinum* dans une plaie. Cette forme de botulisme est rare, mais elle est actuellement en recrudescence chez les personnes s'injectant des drogues.

- Populations à risque

Tous les individus sont susceptibles de développer une intoxication botulique. Les jeunes enfants sont plus à risque face à une toxi-infection botulique, et les drogués vis à vis du botulisme par blessure.

- Relation dose-effet

La toxine botulique est 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 orale.

Le risque lié à l'ingestion d'un aliment contaminé est fonction de la concentration en toxine ou de la teneur en bactéries/spores de *C. botulinum*. En général, l'ingestion unique de quelques grammes d'aliment contenant de la toxine botulique est suffisante pour déclencher un botulisme. Plus la quantité de toxine ingérée est élevée, plus la maladie est d'apparition rapide et sévère.

Chez un nouveau-né ou un jeune enfant, l'ingestion d'une dizaine 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.

- Diagnostic

Le diagnostic biologique est basé sur la mise en évidence et le typage de toxine botulique dans le sérum des malades, et éventuellement sur la recherche de toxine et/ou de *Clostridium*

neurotoxigène dans les selles. La toxi-infection botulique s'accompagne plus rarement de toxine botulique dans la circulation sanguine.

Le diagnostic est étayé par la mise en évidence de toxine botulique et/ou de *Clostridium* neurotoxigène dans l'aliment suspect.

- Traitement et prévention

Le traitement est essentiellement symptomatique. L'assistance respiratoire est indispensable dans les formes sévères. La sérothérapie n'est réellement efficace que si elle est instaurée dans les premières 24 heures qui suivent l'apparition des signes cliniques.

La vaccination est réservée aux populations particulièrement exposées (personnel de laboratoire, militaires). Il n'existe pas de vaccin sous forme commerciale.

- Prévalence

L'incidence annuelle du botulisme en France est de 20 à 40 cas confirmés. Elle est probablement 2 à 4 fois plus élevée du fait de formes frustes ou non diagnostiquées. Le botulisme B est le plus fréquent. Aucune mortalité n'a été observée en France depuis 1997.

Dans le monde, le botulisme se déclare sous forme de cas isolés ou de foyers.

C) Rôle des aliments

- Aliments impliqués

Les aliments à risque pour le consommateur sont des aliments conservés et jamais des aliments frais. Les conserves non acidifiées ou insuffisamment traitées par la chaleur sont les plus à risque. Ainsi, les conserves familiales, des produits commercialisés, réfrigérés, et emballés sous vide, des charcuteries artisanales ou industrielles sont une cause de botulisme.

Parmi les aliments les plus souvent impliqués dans les différents types de botulisme, on peut citer :

- jambon non cuit, salé et séché, charcuteries (saucisses, patés), botulisme de type B.
- conserves de végétaux souillés par de la terre (asperges, ...), conserve de viande de bœuf, botulisme de type A.
- poisson salé et séché, marinades de poisson, poisson ou viande de phoque fermenté, botulisme de type E.
- miel contenant uniquement des spores de *C. botulinum* sans toxine préformée, botulisme infantile A ou B.

Le risque de développement bactérien et de formation de toxine botulique s'accroît avec la durée de conservation des aliments. De plus, la toxine botulique dans les aliments est stable sur une longue période.

Pour assurer un traitement thermique efficace, les barèmes utilisés doivent être validés pour vérifier que le taux de destruction attendu est effectif.

- Conditions conduisant à la contamination

Les aliments sont contaminés par des bactéries/spores de *Clostridium* neurotoxigènes à partir de l'environnement. Les conditions de préparation et conservation des denrées déterminent une éventuelle germination des spores et croissance de ces bactéries ainsi que leur toxinogénèse.

La contamination des viandes a lieu habituellement au cours de l'abattage des animaux (bactériémie d'abattage) à partir des bactéries/spores du tube digestif ou par souillure de la carcasse par des matières fécales. Notamment, les porcs sont des fréquents porteurs sains de *C. botulinum* B.

La non-éviscération ou une éviscération ne respectant pas les règles de bonnes pratiques est à l'origine de la contamination des poissons.

Les fruits, végétaux, et produits laitiers sont contaminés à partir de la terre ou de matières fécales.

Il faut noter que la contamination peut avoir lieu par l'intermédiaire d'épices ou de condiments (poivre, ail, etc.) ajoutés dans certaines denrées.

La résistance des spores de *C. botulinum* est élevée et elle est variable selon les souches. Les composés chlorés sont les agents chimiques les plus actifs. Les spores de *C. botulinum* A, B et E sont tuées à des concentrations de 4,5 ppm de chlore libre (pH 6.5).

Destruction par la chaleur : valeur de D (temps de réduction décimale) comprise entre 0,4 min à 120°C et 6 min à 110°C pour le type A, et entre 0,5 min à 82°C et 4 min à 77°C pour les non protéolytiques.

- Mesures de maîtrise dans le secteur alimentaire

- Appertisation des conserves non acides (pH>4,5) (application des barèmes temps-températures nécessaires pour diminuer la concentration en spores de *C. botulinum* du groupe I d'un facteur de 10¹²).

- Pour les autres produits, respect des bonnes pratiques de fabrication et respect de la chaîne du froid. Les *C. botulinum* du groupe I sont mésophiles et ne cultivent pas aux températures de réfrigération. Par contre, les *C. botulinum* du groupe II sont psychrotrophes (exemple de *C. botulinum* E qui peut contaminer les produits de la pêche). Dans ce cas, le respect de la chaîne du froid et d'une durée brève de conservation, 10 jours par exemple, sont préconisés, car aux températures de réfrigération, la croissance des *C. botulinum* du groupe II est lente.

- Conserves acides, pH<4,5.

- Salaisons. Différents additifs ont été testés pour inhiber la croissance de *C. botulinum*. NaCl (10%) et nitrite (150 µg/g) sont parmi les plus efficaces. L'activité de l'eau est également un facteur à maîtriser.

- surveillance dans les aliments

- Il n'existe pas de critère spécifique dans la réglementation européenne pour *C. botulinum* dans les aliments. La recherche de *C. botulinum* dans les aliments n'est pas un examen approprié en routine, car il faut également rechercher la toxine ce qui ne peut se faire que dans des conditions de sécurité particulières (Opinion of the BIOHAZ panel related to Clostridium spp in foodstuffs, EFSA J. 2005, 199: 1-65).

- Il n'existe pas de méthodes normalisées 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).

D) Hygiène domestique

Les conserves familiales sont parmi les aliments les plus à risque de transmettre le botulisme humain. Les principales précautions concernent d'une part l'hygiène de la préparation des aliments à conserver (nettoyage soigneux des végétaux pouvant être contaminés par de la terre, hygiène de l'abattage des animaux et de la préparation des viandes, propreté des récipients ou emballages), et d'autre part le respect des consignes de stérilisation des fabricants (températures-temps, éviter un trop grand nombre d'unités de conserves par stérilisateur). Une cuisson par ébullition est insuffisante pour stériliser les denrées alimentaires.

Pour les salaisons, notamment les jambons de préparation familiale, il est impératif de respecter les concentrations en NaCl de la saumure et le temps de saumurage de façon à ce qu'une concentration en NaCl inhibitrice de la croissance de *C. botulinum* atteigne le cœur du jambon.

Le respect de la chaîne du froid est indispensable pour la conservation des préparations n'ayant pas subies de traitement thermique ou l'ayant subi à un niveau insuffisant.

Pour les denrées du commerce achetées, il est nécessaire de respecter les consignes de conservation au froid et les dates limites de consommation.

Il faut noter que les boîtes de conserves déformées/bombées et celles dégageant une odeur suspecte à l'ouverture ne doivent pas être consommées.

L'ajout de miel dans les biberons est déconseillé (avis de l'AESA)

Liens

AFSSA, Rapport sur le botulisme d'origine aviaire et bovine, Bialec, Nancy, octobre 2002.

Clostridium botulinum Ecology and control in Foods, A. H. W. Hauschild and K. L. Dodds (Eds), Marcel Dekker, New York, 1993.

Lund B. and Peck M. W. *Clostridium botulinum* in Guide to Foodborne Pathogens, R. G. Labbé et S. Garcia (Eds) A. J. Wiley, New York, 2001, 69-85.

Popoff M. R. Ecology of neurotoxicogenic strains of Clostridia. In Clostridial neurotoxins C. Montecucco (Ed) Springer-Verlag, Heidelberg, Cur. Top. Microbiol. Immunol. Vol 195, 1995, 1-29.

Centre National de Référence des bactéries anaérobies et du botulisme, Institut Pasteur, 28 rue du Dr Roux, 75724 Paris cedex15

<http://www.pasteur.fr/sante/clre/cadrecnr/anaer-index.html>

http://www.invs.sante.fr/publications/guides_biotox/guide_botulisme.html

<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/who270/fr/index.html>

<http://www.afssa.fr> <http://www.ctcpa.org> http://www.efsa.eu.int/science/biohaz/biohaz_opinions

Cette fiche a été élaborée par Mme Poumeyrol (Afssa) en 2003
et modifiée par M. Popoff (Institut Pasteur) en mai 2006
Coordination scientifique : R. Lailler