

# *Clostridium botulinum*, *Clostridium* neurotoxigènes

Famille des *Clostridiaceae*

Bactérie

Agent zoonotique <sup>1</sup>

## Caractéristiques et sources de *Clostridium botulinum* et des *Clostridium* neurotoxigènes

### Principales caractéristiques microbiologiques

Les *Clostridium botulinum* sont responsables de sévères intoxications alimentaires chez l'Homme et les animaux (botulisme) par ingestion de toxine préformée dans un aliment (intoxication) ou par colonisation intestinale et production de toxine *in situ* (toxi-infection). Ce 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 sont divisées en quatre groupes. De plus, certaines souches atypiques, plus rarement isolées en Europe, et appartenant



*C. botulinum* de type A. © M. Popoff - Institut Pasteur

à d'autres espèces de *Clostridium*, sont aussi neurotoxigènes : *C. butyricum* (neurotoxine botulique E) et *C. baratii* (neurotoxine botulique F). À quelques exceptions près, chaque souche produit un seul type de toxine botulique. Les toxines botuliques se divisent en sept 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).

**Tableau 1** : Caractéristiques de survie, de croissance et de toxinogénèse des *C. botulinum* et des *Clostridium* neurotoxigènes en conditions de laboratoire (mise à jour août 2019)

	<i>C. botulinum</i> Groupe I Protéolytique			<i>C. botulinum</i> Groupe II Non protéolytique			<i>C. botulinum</i> Groupe III Non protéolytique			<i>C. botulinum</i> Groupe IV Protéolytique			<i>C. butyricum</i> Groupe V			<i>C. baratii</i> Groupe VI		
	Min.	Opt.	Max.	Min.	Opt.	Max.	Min.	Opt.	Max.	Min.	Opt.	Max.	Min.	Opt.	Max.	Min.	Opt.	Max.
<b>Toxines</b>	A, B, F			B, E, F			C, D			G			E			F		
Sous types de toxines	A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7, A8, B1, B2, B3, B5, B6, B7, B8, bivalent B (Ba, Bf, Ab), F1, F2, F3, F4, F5, F8, X			E1, E2, E3, E6, E7, E8, E9, E10, E11, E12, B4 ou non protéolytique B, F6 ou non protéolytique F			C, D, C/D, D/C			G			E4, E5			F7		
<b>Bactéries apparentées non toxigènes</b>	<i>C. sporogenes</i>			Aucune à ce jour			<i>C. novyi</i>			<i>C. argentinense</i>			<i>C. butyricum</i>			<i>C. baratii</i>		
<b>Croissance</b>	Min.	Opt.	Max.	Min.	Opt.	Max.	Min.	Opt.	Max.	Min.	Opt.	Max.	Min.	Opt.	Max.	Min.	Opt.	Max.
Température (°C)	10	35-40	48	2,5	18-25	45	15	37-40	/	/	37	/	12	3-37	/	10	30-45	/
pH	4,6	/	9	5	7	9	5,1	6,1-6,3	9	4,6	7	/	4,8	7	/	3,7	7	/
a <sub>w</sub>	0,94	/	/	0,97	/	/	0,97	/	/	0,94	/	/	/	/	/	/	/	/
% NaCl inhibant la croissance	10			5			5			10			/			8,5		
<b>Production de toxines</b>																		
Température min (°C)	10			3			15			/			12			10		
a <sub>w</sub> min	0,94			0,97			0,97			0,94			/			/		

<sup>1</sup> Agent responsable de maladie ou d'infection qui peut se transmettre de l'animal à l'Homme ou de l'Homme à l'animal.

## 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.

Il existe des répartitions géographiques différentes selon les types de *C. botulinum*. Ainsi, *C. botulinum* A est fréquemment rencontré dans le sol à l'Ouest des Etats-Unis et en Amérique du Sud, le type B en Europe et à l'Est de l'Amérique du Nord, et le type E dans les pays du Nord de l'hémisphère Nord. Cependant, *C. botulinum* A et B sont moins associés à une zone géographique du fait de la multiplicité des échanges économiques. Les types C et D se rencontrent plus particulièrement dans les pays à climat chaud et pendant les saisons chaudes dans les pays de climat tempéré.

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 est le plus souvent dû aux types C (oiseaux, visons), ou D (bovins, palmipèdes). Par ailleurs *C. botulinum* se retrouve également dans le tube digestif d'animaux asymptomatiques : porc (type B), poissons de la mer Baltique (type E). 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 rapide des animaux morts.

## Voies de transmission

La maladie n'est pas transmissible entre individus. Elle 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 peut être 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, par exemple chez les toxicomanes qui utilisent par injection des drogues ou matériel contaminés, ou exceptionnellement, 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, E et F 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.

**Tableau 2** : Caractéristiques de la maladie

Durée moyenne d'incubation	Principaux symptômes	Durée des symptômes	Complications
5 h - 8 jours 12 - 48 h le plus souvent	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Troubles digestifs (vomissements, diarrhées) observés de façon inconstante en début d'évolution (environ 30-50%)</li> <li>- Constipation fréquente en fin d'évolution (20-70%)</li> <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 : paralysie des membres (de faiblesse des membres à paraplégie) et des muscles respiratoires (50-80%)</li> <li>- Possibilité de formes frustes (troubles visuels et/ou troubles de la déglutition)</li> </ul>	Quelques jours à 8 mois	Décès par insuffisance respiratoire  (létalité : 0 - 5% en France, jusqu'à 25% selon la prise en charge médicale)

**Population sensible<sup>2</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 alimentaire 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>3</sup>

La toxine botulique est à ce jour considérée comme le poison le plus puissant. 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 de poids corporel).

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, soit la quantité de spores que pourraient contenir quelques mg d'un aliment comme le miel ou quelques poussières.

### Épidémiologie

Le botulisme humain est une maladie à déclaration obligatoire. En France, depuis 1991, le nombre médian de cas déclarés (suspectés et confirmés) est de 23 avec une étendue de 5 à 44. Dans la période 2007-2017, 174 cas de botulisme ont été confirmés. Les quatre derniers cas mortels ont été observés en 1997, 2010, 2015 et 2016. Les foyers sont majoritairement associés à la toxine de type B. Deux foyers inhabituels (5 cas au total) étaient dus à *Clostridium baratii* F en 2014 et 2015.

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 ; dans d'autres pays c'est le botulisme par blessure qui est le plus fréquent.

## 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 toxinogénèse. La présence de toxine botulique dans les aliments manufacturés peu acides est souvent due à un défaut de maîtrise du procédé d'appertisation (notamment température de cuisson/stérilisation, pH,  $a_w$ , recontamination après traitement thermique). 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 les plus souvent impliqués dans les foyers de botulisme sont des conserves et des produits de fabrication familiale ou artisanale tels que :

- mortadelle, jambon cru salé et séché, charcuteries (saucisse, pâté) [toxine de type B] ;
- conserves de végétaux (asperges, haricots verts, carottes et jus de carotte, poivrons, olives à la grecque, potiron, tapenade, etc.), salaisons à base de viande de bœuf [toxine de type A] ;
- poisson salé et séché, marinades de poisson, 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.

Exceptionnellement, des produits industriels peuvent être impliqués (2 foyers en 2008, 4 foyers en 2011-2012, 3 foyers en 2013-2015). L'origine alimentaire d'un des foyers à *C. baratii* en 2015 était une sauce bolognaise préparée à partir de viande hachée industrielle et servie dans un restaurant.

**Tableau 3** : Données épidémiologiques relatives au botulisme en France (2007-2017) - (mise à jour août 2019)

Année	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Foyers	6	6	10	7	9	8	11	4	14	13	4
Cas	11	9	25	24	17	10	19	11	22	21	5
Dont cas botulisme infantile	1	1	2		1	1	4		1	1	1
Décès	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0

<sup>2</sup> 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.

<sup>3</sup> Relation entre la dose (la quantité de cellules microbiennes ou de toxines ingérées au cours d'un repas) et l'effet chez un individu

## Traitements d'inactivation en milieu industriel

**Tableau 4** : Impact des traitements en milieu industriel

Traitement	Conditions	Impact	Matrice
Température	La thermorésistance de <i>C. botulinum</i> 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. Valeurs de D <sup>4</sup> et z <sup>5</sup> pour les spores de <i>C. botulinum</i> * : <i>C. botulinum</i> Groupe I : D <sub>121,1°C</sub> = 0,21 min <i>C. botulinum</i> Groupe II : D <sub>80°C</sub> = 0,6-1,25 min <i>C. botulinum</i> Groupe III : D <sub>104°C</sub> = 0,1-0,9 min <i>C. botulinum</i> Groupe IV : D <sub>104°C</sub> = 0,8-1,12 min* z = 10°C Les spores sont résistantes à la congélation. * Variable selon les souches		
Désinfectants	Les spores sont sensibles à la majorité des désinfectants autorisés en IAA, sous réserve de suivre les modalités d'utilisation recommandées.		
	Chlore libre 4,5 ppm (m/v) (pH 6,5), 5-10 min	Inactivation des spores de <i>C. botulinum</i> A, B et E	
Hautes pressions	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 <sub>10</sub> <sup>6</sup> pour les spores D <sub>10</sub> (T°C ≤ -18) = 2 - 4,5 kGy (Groupe I) D <sub>10</sub> (T°C ≤ -18) = 1,0 - 2,0 kGy (Groupe II)		Aliments congelés

## Surveillance dans les aliments

Il n'existe pas de critère microbiologique 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 la détection de toxine et/ou des gènes codant pour les neurotoxines (PCR essentiellement). La recherche de *C. botulinum* dans les aliments n'est pas pratiquée 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 alimentaire de pH égal ou supérieur à 4,5 doit être soumis à un traitement garantissant une efficacité stérilisatrice (valeur stérilisatrice<sup>7</sup> F<sup>10</sup><sub>121,1</sub> ≥ 3 min) adéquate contre les spores de *C. botulinum*.
- Respect des recommandations de l'ACMSF<sup>8</sup> 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 :
  - Conservation à < 3°C, ≤ 5°C si DLC (date limite de consommation) ≤ 10 jours, 5-10°C si DLC ≤ 5 j.
  - Conservation à 8°C si traitement thermique 90°C/10 min, ou 85°C/36 min, ou 80°C/129 min, ou 75°C/464 min, ou 70°C/1675 min.
  - Conservation à 8°C si pH ≤ 5, ou NaCl ≥ 3,5%, ou a<sub>w</sub> ≤ 0,97.
  - Salaisons : le sel nitrité (150 mg maximum de nitrites /kg de produit) est l'inhibiteur de croissance de *C. botulinum* le plus efficace.
  - Bonnes pratiques d'hygiène en apiculture pour limiter la contamination du miel par *C. botulinum*.

<sup>4</sup> D est le temps nécessaire pour diviser par 10 la population du danger microbiologique initialement présente.

<sup>5</sup> z est la variation de température (°C) correspondant à une variation d'un facteur 10 du temps de réduction décimale (D).

<sup>6</sup> D<sub>10</sub> est la dose (en kGy) nécessaire pour diviser par 10 la population du danger microbiologique initialement présente.

<sup>7</sup> 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

<sup>8</sup> Advisory Committee on the Microbiological Safety of Food - Food Standards Agency UK

## 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 et 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 conserve déformées/bombées ou celles dégageant une odeur suspecte à l'ouverture ne doivent pas être consommées. Lors de l'ouverture des bocaux de verre, le bruit provoqué par l'entrée d'air doit être entendu.
- Pour les jambons de préparation familiale, il est impératif de respecter les concentrations en sel de la saumure et le temps de saumuration 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.
- Ne pas faire consommer du miel aux enfants de moins de 12 mois.

## Liens

### Références générales

- AFSSA (2002). Rapport sur le botulisme d'origine aviaire et bovine.
- Carter AT, Peck MW. Genomes, neurotoxins and biology of *Clostridium botulinum* Group I and Group II. *Res Microbiol* 2015; 166 (4):303-317.
- Castor C, Mazuet C, Saint-Leger M, Vygen S, Coutureau J, Durand M, et al. Cluster of two cases of botulism due to *Clostridium baratii* type F in France, November 2014. *Euro Surveill.* 2015; 20: 1-3.

EFSA (2005). Opinion of the BIOHAZ panel related to *Clostridium* spp in foodstuffs. *The EFSA Journal*, 199: 1-65.

FSA (Food Standards Agency) (2008). Food standards agency advice on the safety and shelf-life of vacuum and modified atmosphere packed chilled foods with respect to non-proteolytic *Clostridium botulinum*.

[www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/publication/vacpacguide.pdf](http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/publication/vacpacguide.pdf)

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.

Lund, B.M. and Peck, M.W. (2013) *Clostridium botulinum*. In *Guide to Foodborne Pathogens*, Second Edition eds. Labbé, R.G. and Garcia, S.: John Wiley & Sons

Mazuet C, King LA, Bouvet P, Legeay C, Sautereau J, Popoff MR (2014). Le botulisme humain en France, 2010-2012. *BEH.* 2014; 6: 106-114.

Peck MW, Stringer SC, Carter AT (2011). *Clostridium botulinum* in the post-genomic era. *Food Microbiol* 2011; 28 (2):183-191.

Peck, M.W., Smith, T.J., Anniballi, F., Austin, J.W., Bano, L., Bradshaw, M., Cuervo, P., Cheng, L.W., Derman, Y., Dörner, B.G., et al. (2017). Historical Perspectives and Guidelines for Botulinum Neurotoxin Subtype Nomenclature. *Toxins (Basel)* 9, 38.

Pingeon J, Vanbockstael C, Popoff M, King L, Deschamps B, Pradel G, et al (2011). Two outbreaks of botulism associated with consumption of green olive paste, France, September 2011. *Euro Surveill.* 2011; 16: 1-3.

Popoff M. R., Carlier J. P., Poulain B. (2009). Botulisme, In: EMC (Ed.) *Maladies Infectieuses*, pp. 1-17. Elsevier Masson SAS, Paris.

Popoff MR, Mazuet C, Poulain B. Botulism and tetanus (2013). *The prokaryotes: Human microbiology*. 4<sup>e</sup> ed. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag 2013; 247-290.

Popoff, M.R. (2018). Botulinum toxins, Diversity, Mode of Action, Epidemiology of Botulism in France. In *Botulinum Toxin*, S. Nikolai, ed. (London: IntechOpen) Smith TJ, Hill KK, Raphael BH (2015). Historical and Current Perspectives on *Clostridium botulinum* Diversity. *Res Microbiol* 2015; 166 (4):290-302.

Trehard H, Poujol I, Mazuet C, Blanc Q, Gillet Y, Rossignol F, et al (2016). A cluster of three cases of botulism due to *Clostridium baratii* type F, France, august 2015. *Euro Surveill.* 2016; 21.

### Liens utiles

Centre National de Référence des bactéries anaérobies et du botulisme, Institut Pasteur : <http://www.pasteur.fr/fr/sante/centres-nationaux-referance/les-cnr/bacteries-anaerobies-et-botulisme>

Santé publique France : <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/maladies-infectieuses-d-origine-alimentaire/botulisme>