

RAPPORTAGE POUR 2019

Centre national de référence pour *Clostridium botulinum* et *Clostridium* *perfringens*

Centre de référence – coordinateur

| | | |
|-----------------------|-------------------|--------------------------------------|
| Tom Van Nieuwenhuysen | Sciensano | 14, Rue J. Wytsman 1050 Bruxelles |
| Tel : 02 642 57 80 | Fax: 02 642 56 92 | botulisme@sciensano.be |

1. Résumé des principaux résultats obtenus en 2019

En 2019, des échantillons humains cliniques (sérum et/ou selles) provenant de 19 patients ont été analysés pour rechercher une suspicion de botulisme humain. Un cas a été confirmé en laboratoire. Il s'agissait d'un cas de botulisme infantile dont la cause n'a pas pu être identifiée.

Pour l'analyse de *C. perfringens*, 26 selles humaines et 1 isolat bactérien ont été transmis au CNR. Dans 2 toxi-infections alimentaires collectives (TIAC), le *C. perfringens* entérotoxigène a pu être identifié comme agent causale. Au total, 35 personnes ont été touchées.

Tant pour *C. botulinum* que pour *C. perfringens*, il n'y a pas eu de changement significatif dans l'incidence de l'agent pathogène par rapport aux années précédentes.

2. Aperçu des activités

Le CNR *C. botulinum* et *C. perfringens* dispose de plusieurs méthodes validées et accréditées pour le diagnostic du botulisme en laboratoire ainsi que pour la confirmation de la cause des toxi-infections alimentaires par *C. perfringens*. En outre, le CNR est en mesure de déterminer la concentration minimale inhibitrice (MIC) d'une série d'antibiotiques contre des souches isolées de *C. perfringens*.

| Méthodes <i>C. botulinum</i> | Méthodes <i>C. perfringens</i> |
|--|--|
| ➤ Détection de la neurotoxine botulique (BoNT) par la méthode <i>in vivo</i> | ➤ Méthode de dénombrement et de confirmation de l'espèce |
| ➤ Détection des germes producteurs de BoNT par la méthode <i>in vivo</i> | ➤ Détection de l'entérotoxine A par PET-RPLA |
| ➤ Détection des germes producteurs de BoNT par qPCR | ➤ Détection de <i>C. perfringens</i> (entérotoxigène) |
| | ➤ Détermination du toxinotype par qPCR |
| | ➤ Détermination du MIC d'une série d'antibiotiques |

2.1. ANALYSES POUR CLOSTRIDIUM BOTULINUM

En 2019, un total de 21 échantillons cliniques ont été transmis au CNR pour la détection de *C. botulinum* et la toxine botulique. Ces échantillons provenaient de 19 patients différents et ont été prélevés dans le cadre d'une suspicion de botulisme humain. Nous avons reçu pour deux patients à la fois des selles et du sérum, pour deux patients uniquement des selles et pour 15 patients uniquement du sérum. Au total, 17 échantillons de sérum et 4 échantillons de selles ont été analysés. Les échantillons de sérum sont uniquement analysés pour la présence de BoNT par la méthode *in vivo*. Les selles sont analysées à la fois pour détecter la présence de BoNT (méthode *in vivo*) et le germe producteur de BoNT. Pour la détection du germe producteur de BoNT, une culture d'enrichissement est d'abord réalisée. Après incubation, la détection de la toxine BoNT par la méthode *in vivo*, d'une part, et la détection des gènes producteurs de BoNT par la méthode qPCR, d'autre part, suivent.

- **Limbourg, février 2019**

En 2019, un cas de botulisme infantile a été confirmé au laboratoire. Ce cas concernait un bébé de 3 mois qui présentait des symptômes de refus alimentaire, de ptose et d'hypotonie. Un échantillon de selles et un sérum ont été envoyés au CNR. Dans les selles, la toxine (BoNT B) et le germe (*C. botulinum* de type B) ont été détectés. Aucune BoNT n'a été détectée dans le sérum. Le bébé n'a pas consommé de miel et aucun autre échantillon alimentaire ou environnemental n'a été envoyé au laboratoire.

2.2. ANALYSES POUR CLOSTRIDIUM PERFRINGENS

Au total, 27 échantillons humains ont été analysés pour *C. perfringens* en 2019. Il s'agissait de 26 échantillons de selles et d'une souche bactérienne isolée. Les échantillons provenaient principalement de patients souffrant de troubles gastro-intestinaux. Certains de ces échantillons ont été envoyés par Zorg en Gezondheid Vlaanderen et AVIQ dans le cadre d'une possible toxi-infection alimentaire. D'autres patients souffraient d'infections non liées à l'alimentation et les échantillons avaient été envoyés par des laboratoires cliniques.

En 2019, des échantillons cliniques provenant de 6 foyers TIACs différents ont été analysés. Parmi ces derniers, il y en a deux qui pouvaient être associés à *C. perfringens* entérotoxigène. Ces cas sont brièvement expliqués ci-dessous.

- **Liège, mars 2019**

Neuf personnes, résidant ensemble dans un centre, sont tombées malades en même temps avec de la diarrhée comme symptôme principal. Un échantillon de selles a été envoyé au laboratoire dans lequel l'entérotoxine de *C. perfringens* a ensuite été détectée par analyse PET-RPLA. La présence de *C. perfringens* n'a pas pu être détectée dans l'alimentation.

- **Brabant-Wallon, décembre 2019**

Dans ce foyer, 27 personnes d'une maison de repos sont tombées malades et ont présenté des symptômes tels que des douleurs abdominales et une diarrhée aqueuse. La bactérie *C. perfringens* entérotoxigène a été détectée dans les 6 échantillons de selles envoyés. Les échantillons d'aliments ont fait l'objet d'une analyse externe, mais la présence de *C. perfringens* n'a malheureusement pas pu être démontrée.

3. Caractéristiques épidémiologiques

Le CNR *C. botulinum* et *C. perfringens* est chargé du diagnostic, de la confirmation et de la surveillance du botulisme humain ainsi que des infections dues à *C. perfringens*.

3.1. CLOSTRIDIUM BOTULINUM

Selon les données récoltées par le CNR sur ces dernières années, le botulisme humain est rare en Belgique (voir Tableau 1). Seuls 20 cas de botulisme d'origine alimentaire ont effectivement été confirmés depuis 1988 en Belgique. Parmi ceux-ci, 17 cas ont été identifiés comme des cas de botulisme type B, un cas de botulisme type A (associé à la consommation d'un plat de pommes de terre aux oignons et jambon), et deux cas dont ni le type ni l'origine n'ont pu être identifiés. Le botulisme de type B semble prépondérant en Belgique, tout comme en France et en Italie, et il est majoritairement associé à la consommation de jambon (10 cas), mais également d'olives (1 cas) et de miel (1 cas).

Tableau 1 – Cas de botulisme humain en Belgique (1988-2019).

| Base de données du CNR <i>C. botulinum</i> et <i>C. perfringens</i> (Sciensano) | | | |
|---|---------------|--------------------------|--|
| Année | Nombre de cas | Type de toxine impliquée | Source d'intoxication |
| 1988 | 0 | | |
| 1989 | 2 | B / B | Jambon |
| 1990 | 1 | B | Jambon |
| 1991 | 0 | | |
| 1992 | 1 | B | Jambon |
| 1993 | 1 | ? | Inconnu |
| 1994 ^a | 1 | ? | Inconnu |
| 1995 | 0 | | |
| 1996 | 1 | A | Plat avec pomme de terre aux oignons et jambon |
| 1997 | 3 | B / B / B | Jambon |
| 1998 | 1 | B | Olives |
| 1999 | 0 | | |
| 2000 | 0 | | |
| 2001 | 0 | | |
| 2002 | 0 | | |
| 2003 | 0 | | |
| 2004 | 1 | B | Jambon |
| 2005 | 0 | | |
| 2006 | 0 | | |
| 2007 | 0 | | |
| 2008 | 1 | B | Inconnu |
| 2009 | 0 | | |
| 2010 | 0 | | |

| | | | |
|------|----------------|----------------|--------------------------------------|
| 2011 | 2 ^b | B / B | Inconnu et miel |
| 2012 | 0 | | |
| 2013 | 0 | | |
| 2014 | 1 | B | Non confirmée (carpaccio et lasagne) |
| 2015 | 2 | B / B | Jambon |
| 2016 | 1 | B ^c | Inconnu |
| 2017 | 0 | | |
| 2018 | 0 | | |
| 2019 | 1 | B ^c | Inconnu |

^a cas déclaré par la communauté française

^b dont 1 cas de botulisme infantile (Godart et al., 2014);

^c botulisme infantile

3.2. CLOSTRIDIUM PERFRINGENS

La surveillance des foyers dus à *C. perfringens* dans le cadre du CNR a démarré en 2013 (Tableau 2). De manière générale, cela concerne un grand nombre de malade par foyer. Les foyers confirmés liés à *C. perfringens* depuis 2013 sont résumés dans le tableau 2. En 2019, deux foyers ont été confirmés avec un total de 35 personnes malades.

Tableau 2 – Cas de toxi-infections alimentaires à *C. perfringens* en Belgique (2013-2019).

| Base de données du CNR <i>C. botulinum</i> et <i>C. perfringens</i> (Sciensano) | | | | |
|---|---------------------|---------------|------------------|---------------------------------------|
| Année (total TIA) | Province | Nombre de cas | Confirmation | Source d'intoxication |
| 2013 (2) | Luxembourg | 70 | Humain + aliment | TIAC/2013/LUX/001 : goulasch de boeuf |
| | Limbourg | 18 | Humain | CVTI/2013/LIM/012 : inconnu |
| 2014 (1) | Liège | 17 | Aliment | TIAC/2014/LIE/010 : arancini |
| 2015 (0) | | | | |
| 2016 (4) | Flandre-Occidentale | 200 | Humain + aliment | CVTI/2016/WVL/001 : carbonnade |
| | Flandre-Orientale | 26 | Humain + aliment | CVTI/2016/OVL/006 : lasagne |
| | Namur | 30 | Humain + aliment | TIAC/2016/NAM/004 : vol-au-vent |
| | Limbourg | 46 | Humain | CVTI/2016/LIM/004 : carbonnade |
| 2017 (2) | Flandre-Occidentale | 142 | Humain + aliment | CVTI/2017/WVL/004 : gyros |
| | Flandre-Orientale | 40 | Humain | CVTI/2017/OVL/005 : inconnu |
| 2018 (1) | Liège | 16 | Aliment | TIAC/2018/LIE/008 : vol-au-vent |
| 2019 (2) | Brabant Wallon | 27 | Humain | TIAC/2019/BNA/001 : inconnu |
| | Liège | 9 | Humain | TIAC/2019/LIE/011 : inconnu |

En parallèle de la surveillance des toxi-infections alimentaires, le CNR reçoit également parfois des échantillons cliniques provenant d'infections non-alimentaires. Dans ce cadre, *C. perfringens* a été détecté et caractérisé lors de deux cas d'infections post-opératoires en 2014 (Jonckheere *et al.*, 2014). En 2019, deux échantillons de selles ont été analysés dans un contexte non alimentaire. Un premier provenant d'un patient atteint d'une maladie rare de démyélinisation, pour laquelle un lien avec la toxine epsilon de *C. perfringens* a été décrit. Dans cet échantillon, aucun *C. perfringens* n'a été retrouvé par le CNR. Un deuxième échantillon provenant d'un patient souffrant de troubles abdominaux chroniques. Dans cet échantillon, aucun *C. perfringens* entérotoxigène n'a été retrouvé. En outre, un toxinotype a également été déterminé sur une souche provenant d'une hémoculture en 2019. Jusqu'à présent, aucune résistance n'a été détectée pour aucune des souches analysées par rapport aux antibiotiques pertinents inclus dans le test de MIC. L'interprétation sensible/résistant pour les isolats de *C. perfringens* est basée sur les points limites cliniques définis par EUCAST pour les bactéries anaérobies Gram+, y inclus *Clostridium* spp. (http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/).

4. Références

- V. Godart, B. Dan, G. Mascart, Y. Fikri, K. Dierick, P. Lepage. Botulisme infantile après exposition à du miel, Archives de Pédiatrie, 2014;21:628-631
- S. Jonckheere, A.M.A.I. Boel, T. De Beer, L. Delbrassinne, K.M.C. Van Vaerenbergh, H.R.I.W. De Beenhouwer, 2014. Postoperatieve wondinfecties met *Clostridium perfringens* na orthopedische chirurgie: twee casussen met aandacht voor epidemiologisch onderzoek / Surgical site infections caused by *Clostridium perfringens* after orthopedic surgery: two case reports with attention to epidemiologic investigation. Tijdschrift voor InfectieZiekten, 9(6):177-81.
- http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/