

# RAPPORTAGE POUR 2021

## Centre national de référence pour *Clostridium botulinum*, *Clostridium* *perfringens* et *Clostridium tetani*

Centre de référence – coordinateur

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

### 1. Résumé des principaux résultats obtenus en 2021

En 2021, des échantillons humains cliniques (sérum et/ou selles) provenant de 6 patients ont été analysés pour rechercher une suspicion de botulisme humain. Aucun cas n'a été confirmé en laboratoire.

Pour l'analyse de *C. perfringens*, 11 échantillons humains ont été transmis au CNR. Il s'agissait principalement d'échantillons de selles et d'isolats. En outre, 4 souches isolées de l'alimentation ont été envoyées en 2021 pour l'analyse de *C. perfringens* dans le contexte d'une toxi-infection alimentaire. Dans 2 toxi-infections alimentaires collectives (TIAC), *C. perfringens* a pu être identifié comme agent causale. Au total, 10 personnes ont été touchées.

En ce qui concerne la détection de la toxine tétanique, 4 échantillons de sérum humain ont également été reçus. Cette toxine n'a pu être détectée dans aucun de ces échantillons.

Tant pour *C. botulinum* que pour *C. perfringens* et *C. tetani*, 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*, *C. perfringens* et *C. tetani* 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*. Depuis 2020, *C. tetani* a également été ajouté au cadre du CNR. Le CNR est capable de détecter la toxine tétanique dans le sérum.

Méthodes <i>C. botulinum</i>	Méthodes <i>C. perfringens</i>	Méthodes <i>C. tetani</i>
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Détection de la neurotoxine botulique (BoNT) par la méthode <i>in vivo</i></li> <li>➤ Détection des germes producteurs de BoNT par la méthode <i>in vivo</i></li> <li>➤ Détection des germes producteurs de BoNT par qPCR</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Méthode de dénombrement et de confirmation de l'espèce</li> <li>➤ Détection de l'entérotoxine A par PET-RPLA</li> <li>➤ Détection de <i>C. perfringens</i> (entérotoxigène)</li> <li>➤ Détermination du toxinotype par qPCR</li> <li>➤ Détermination du MIC d'une série d'antibiotiques</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Détection de la toxine tétanique par la méthode <i>in vivo</i></li> <li>➤ Détermination des anticorps anti-tétanos par ELISA</li> </ul>

### 2.1. ANALYSES POUR CLOSTRIDIUM BOTULINUM

En 2021, un total de 10 échantillons cliniques ont été transmis au CNR pour la détection de *C. botulinum* et la toxine botulique (BoNT). Ces échantillons provenaient de 6 patients différents et ont été prélevés dans le cadre d'une suspicion de botulisme humain. Nous avons reçu pour 4 patients à la fois des selles et du sérum et pour 2 patients uniquement du sérum. Au total, 6 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 mise en place. 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. En 2021, *C. botulinum* et/ou BoNT n'ont été détectés dans aucun des échantillons cliniques.

## 2.2. ANALYSES POUR CLOSTRIDIUM PERFRINGENS

Au total, 11 échantillons humains ont été analysés pour *C. perfringens* en 2021. Il s'agissait de 7 échantillons de selles et 4 souches bactériennes isolées. Les échantillons provenaient de patients souffrant de troubles gastro-intestinaux. Les souches ont été isolées d'une hémoculture. Six échantillons ont été envoyés par AVIQ et AZG dans le cadre d'une possible TIAC. Les échantillons cliniques transmis dans le cadre d'infections non liées à l'alimentation étaient des souches isolées de *C. perfringens*, pour lesquelles une analyse MIC et/ou un typage moléculaire par qPCR étaient demandés, afin d'initier un traitement approprié ou à des fins de surveillance.

### 2.2.1. Résistances aux antimicrobiens

En 2021, les résistances antimicrobiennes de 8 souches de *C. perfringens* ont été déterminées par analyse MIC. Ces souches ont été transmises au CNR par différents hôpitaux en Belgique. Une souche a été signalée comme résistante à la pénicilline et provenait d'un patient avec un antécédent médical d'infection à *C. difficile* post-antibiotique. L'interprétation "sensible" ou "résistant" était basée sur les seuils cliniques établis par EUCAST pour les bactéries anaérobies à Gram positif, y compris *Clostridium* spp.

### 2.2.2. Toxinotype

En outre, le toxinotype a également été déterminé pour 4 souches de *C. perfringens*. Toutes les souches ont été identifiées comme Type A.

Diagnostic	Toxinotype <i>C. perfringens</i>
Antécédents d'AAD due à <i>C. difficile</i> (symptômes : diarrhée aqueuse)	Type A (cpα)
Perforation couverte	Type A (cpα)
Septicémie, translocation depuis l'intestin	Type A (cpα)
Inconnue (symptômes : douleurs abdominales et fièvre)	Type A (cpα)

### 2.2.3. Infections liées à l'alimentation

Un échantillon fécal a été transmis au CNR dans le cadre d'une infection alimentaire possible (max. 1 personne affectée). Dans 1 échantillon, la présence de l'entérotoxine a pu être démontrée par l'analyse PET-RPLA.

Il y a 6 échantillons cliniques qui ont été reçus dans le contexte de 4 foyers de TIAC ( $\geq 2$  personnes). Dans aucun de ces échantillons, l'entérotoxine n'a pu être détectée, ni un grand nombre ( $>10^5$  CFU/g) de *C. perfringens* n'a pu être dénombré.

Cependant, 4 isolats alimentaires provenant de 4 foyers possibles ont fait l'objet d'une analyse. Parmi ceux-ci, 1 a pu être associé à *C. perfringens* entérotoxigène:

- **Flandre-Occidentale, Octobre 2021** (Delbrassinne et al., 2022)

Après avoir consommé une soupe de potiron faite maison avec des boulettes, 6 enfants et un enseignant ont développé des diarrhées. Un grand nombre de *C. perfringens* a été détecté dans les restants de la soupe. La détermination du toxinotype a montré la présence du gène de l'entérotoxine dans la souche de *C. perfringens*. Malheureusement, aucun échantillon humain n'a été reçu pour confirmer ce foyer.

### 2.3. ANALYSES POUR CLOSTRIDIUM TETANI

En 2021, 4 échantillons cliniques (sérum) ont été envoyés pour la détection de la toxine tétanique. La toxine tétanique n'a été détectée dans aucun des échantillons. En plus du diagnostic du tétanos en laboratoire, le statut vaccinal est également vérifié par le titrage des anticorps antitétaniques présents dans le sang. Cette année, 1066 échantillons ont été reçus et analysés.

### 3. Caractéristiques épidémiologiques

Le CNR *C. botulinum*, *C. perfringens* et *C. tetani* est chargé du diagnostic, de la confirmation et de la surveillance du botulisme et tétanos 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 21 cas de botulisme d'origine alimentaire ont effectivement été confirmés depuis 1988 en Belgique. Parmi ceux-ci, 18 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 2 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). Au cours des 5 dernières années, 3 cas de botulisme infantile ont également été confirmés.

**Tableau 1** – Cas de botulisme humain en Belgique (1988-2021).

Base de données du CNR <i>C. botulinum</i> , <i>C. perfringens</i> et <i>C. tetani</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 <sup>a</sup>	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 <sup>b</sup>	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 <sup>c</sup>	Inconnu
2017	0		
2018	0		
2019	1	B <sup>c</sup>	Inconnu
2020	1	B <sup>c</sup>	Miel artisanal (non confirmé)
2021	0		

<sup>a</sup> cas déclaré par la communauté française

<sup>b</sup> dont 1 cas de botulisme infantile (Godart et al., 2014);

<sup>c</sup> 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 2021, la présence de *C. perfringens* entérotoxigène dans les aliments a pu être détectée dans une TIAC impliquant 7 personnes malades.

**Tableau 2** – Cas de toxi-infections alimentaires à *C. perfringens* en Belgique (2013-2021).

Base de données du CNR <i>C. botulinum</i> , <i>C. perfringens</i> et <i>C. tetani</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
2020 (1)	Hainaut	21	Aliment	TIAC/2020/HAI/003 : paella
2021 (1)	Flandre-Occidentale	7	Aliment	CVTI/2021/WVL/011 : soupe au potiron avec boulettes de viande

### 3.3. CLOSTRIDIUM TETANI

En 2019 comme en 2018, le LNR *C. tetani* a confirmé 1 cas de tétanos au laboratoire. Les cas concernaient des personnes âgées respectivement de 79 et 73 ans. Chez la 2<sup>ième</sup> personne, aucun anticorps antitétanique n'a été trouvé dans le sang. Le vaccin antitétanique a été administré il y a plus de 15 ans. Chez la première personne, aucun titre d'anticorps antitétanique n'a pu être déterminé et le statut vaccinal était également inconnu. Aucun cas de tétanos n'a été confirmé en 2021.

**Tableau 3 – Cas de tétanos humain en Belgique**

Année	Province	Age	Titre des anticorps antitétanique (UI/mL)	Rappel décennal reçu?
2015 <sup>a</sup>	/	/	/	/
2016 <sup>a</sup>	/	/	/	/
2017 <sup>a</sup>	/	/	/	/
2018 <sup>a</sup>	Flandre-Occidentale	79	Inconnu	Inconnu
2019 <sup>a</sup>	Flandre-Orientale	73	< 0.01	Non
2020	/	/	/	/
2021	/	/	/	/

<sup>a</sup> Données du LNR *C. tetani*

## 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/](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/)
- C. Wyndham-Thomas, T. Van Nieuwenhuysen, 2018. *Epidemiologische surveillance van tetanus Clostridium tetani – beschikbare gegevens in 2018*. [https://www.sciensano.be/sites/default/files/tetanus\\_2018\\_nfinal\\_2.pdf](https://www.sciensano.be/sites/default/files/tetanus_2018_nfinal_2.pdf)
- Delbrassinne L., Verhaegen B., Van Damme I., Van Hoorde K. 2022. *Toxi-infections alimentaires en Belgique, rapport annuel 2021*, Sciensano. Depotnummer: D/2021/14.440/63 (<https://www.sciensano.be/nl/biblio/toxi-infections-alimentaires-en-belgique-rapport-annuel-2021>)