

# RAPPORTAGE POUR 2022

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

Centre de référence – coordinateur

Tom Van Nieuwenhuysen Julie Linussio	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 2022

En 2022, des échantillons humains cliniques (sérum et/ou selles) provenant de 13 patients ont été analysés pour rechercher une suspicion de botulisme humain. Trois cas ont été confirmés en laboratoire.

Pour l'analyse de *C. perfringens*, 29 échantillons humains ont été transmis au CNR. Il s'agissait principalement d'échantillons de selles (19) et d'isolats (10). En outre, une souche isolée de l'alimentation a été reçue en 2022 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, 63 personnes ont été touchées.

En ce qui concerne la détection de la toxine tétanique, 3 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 2022, un total de 27 échantillons cliniques ont été transmis au CNR pour la détection de *C. botulinum* et la toxine botulique (BoNT). Ces échantillons provenaient de 13 patients différents et ont été prélevés dans le cadre d'une suspicion de botulisme humain. Nous avons reçu pour 9 patients à la fois des selles et du sérum, pour 1 patient uniquement des selles et pour 3 patients uniquement du sérum. 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 2022, *C. botulinum* et/ou BoNT ont été détectés dans plusieurs échantillons cliniques :

- **Cas 1: Anvers, juin 2022**

En juin 2022, le CNR a reçu un échantillon de sérum, de selles et du contenu stomacal d'un patient qui présentait des symptômes tels qu'une perte de force, une diplopie, une sécheresse de la bouche et une dyspnée. Une intubation s'est finalement avérée nécessaire. La BoNT a pu être détectée dans le sérum à l'aide de la méthode *in vivo* et la PCR a confirmé la présence de *C. botulinum* de type E dans le contenu stomacal. L'échantillon fécal était toujours négatif à ce moment-là. Dans un échantillon de suivi (8 jours plus tard), aucune toxine n'a été détectée dans le sérum, mais *C. botulinum* type E a été détecté dans les selles à la fois par PCR et par la méthode *in vivo*.

Quelques heures avant l'apparition des symptômes, un plat de poisson au four datant de deux jours a été consommé. Comme *C. botulinum* type E est souvent associé au poisson, les restes de la casserole ont également été analysés, mais ni la BoNT ni le germe n'ont pu y être détectés.

- **Cas 2: Flandre-Orientale, octobre 2022**

En octobre 2022, un patient a été admis à l'hôpital pour des symptômes comprenant des vomissements, une dyspnée et une sensation de gorge bloquée. Ces symptômes ont évolué vers une paralysie complète nécessitant une intubation. Une semaine après l'apparition des symptômes, un échantillon de selles et de sérum a été envoyé au CNR. La BoNT a pu être détectée dans le sérum et du *C. botulinum* de type B a pu être détecté dans les selles.

L'homme s'était rendu en Pologne quelques semaines auparavant, où il avait acheté plusieurs viandes artisanales. Malheureusement, ces viandes ont toutes été jetées après la confirmation du diagnostic, de sorte qu'il n'était plus possible de les analyser.

- **Cas 3: Flandre-Orientale, décembre 2022**

Début novembre, un homme très confus et incapable de se relever après une chute a été hospitalisé. En raison de symptômes peu clairs, un échantillon de sérum et de selles ont été envoyés au CNR six semaines seulement après l'admission. Dans l'échantillon de selles, la toxine botulique a pu être détectée par la méthode *in vivo*. Malheureusement, l'échantillon disponible pour le typage était insuffisant.

## 2.2. ANALYSES POUR CLOSTRIDIUM PERFRINGENS

Au total, 29 échantillons humains ont été analysés pour *C. perfringens* en 2022. Il s'agissait de 19 échantillons de selles et 10 souches bactériennes isolées. Les échantillons provenaient de patients souffrant de troubles gastro-intestinaux. Les souches ont été isolées d'une hémoculture ou d'une plaie. Seize 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 2022, les résistances antimicrobiennes de 4 souches de *C. perfringens* ont été déterminées par analyse MIC. Ces souches ont été transmises au CNR par plusieurs hôpitaux en Belgique. Une souche a été signalée comme résistante à la clindamycine et provenait d'un patient avec le syndrome abdominal aigu. 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 8 souches de *C. perfringens*. Toutes les souches ont été identifiées comme Type A, dont 1 positive pour le gène de l'entérotoxine.

Diagnostic	Toxinotype <i>C. perfringens</i>
Cholécystite chez un patient hémodialysé	Type A (cpα)
Diarrhée aqueuse	Type A (cpα), cpeA-positif
Plaie infectée de polytraumatisé	Type A (cpα)
Abcès profond peropératoire au coude	Type A (cpα)
Gangrène du poignet de la plaie postopératoire	Type A (cpα)
Diarrhée aqueuse	Type A (cpα)
Abcès hépatiques en cas de cholangioca connu	Type A (cpα)
Plaie moignon d'amputation	Type A (cpα)

### 2.2.3. Infections liées à l'alimentation

Seize échantillons cliniques ont été reçus dans le contexte de 4 foyers de TIAC ( $\geq 2$  personnes). Dans les échantillons d'un foyer, *C. perfringens* entérotoxigène a pu être détecté dans les selles. Dans les échantillons d'un autre foyer, l'entérotoxine A et le *C. perfringens* entérotoxigène ont pu être retrouvés. Dans les deux cas, *C. perfringens* entérotoxigène a également pu être isolé à partir du repas suspect.

- **Brabant Wallon, avril 2022**

Dans une maison de repos, 30 résidents et 3 membres du personnel ont développé des diarrhées après avoir consommé un ragoût de dinde. Un échantillon fécal provenant d'une personne a été transmis au CNR et s'est révélé positif pour *C. perfringens* entérotoxigène. Les restants du repas ont également permis d'isoler une souche de *C. perfringens* dont la détermination du toxinotype a pu montrer la présence du gène de l'entérotoxine.

- **Liège, septembre 2022**

Dans une maison de repos, 30 résidents ont développé des symptômes de diarrhée et de douleurs abdominales. Une personne a même été hospitalisée. Cinq échantillons fécaux ont été analysés par le CNR dans ce contexte et se sont révélés positifs pour la présence de l'entérotoxine A et *C. perfringens* entérotoxigène. Une souche de *C. perfringens* a également pu être isolée à partir du repas consommé "Pâtes au brocoli et au saumon" dans lequel le gène de l'entérotoxine était présent.

### 2.3. ANALYSES POUR CLOSTRIDIUM TETANI

En 2022, 3 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, 818 échantillons ont été reçus et analysés. Dans 3,7 % des échantillons, le titre des anticorps antitétaniques était inférieur à la limite de protection (0,01 UI/mL).

### 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 24 cas de botulisme d'origine alimentaire ont effectivement été confirmés depuis 1988 en Belgique. Parmi ceux-ci, 19 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), 1 cas de botulisme type E, et 3 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 (2 cas). En 2022, le botulisme de type E a été confirmé pour la première fois en Belgique.

**Tableau 1** – Cas de botulisme humain en Belgique (1988-2022).

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		
2022	3	E/B/Inconnu	Plat de poisson (non confirmé) Produits de viande artisanaux (non confirmé) Inconnu

<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 malades par foyer. Les foyers confirmés liés à *C. perfringens* depuis 2013 sont résumés dans le tableau 2. En 2022, deux TIAC ont été liées à *C. perfringens*.

**Tableau 2 – Cas de toxi-infections alimentaires à *C. perfringens* en Belgique (2013-2022).**

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

2022 (2)	Brabant Wallon	33	Humain + aliment	TIAC/2022/BNA/001: mijoté de dinde
	Liège	30	Humain + aliment	TIAC/2022/LIE/007: pâtes au brocoli et au saumon

### 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 2e 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 2022.

**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	/	/	/	/
2022	/	/	/	/

<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)