

RAPPORTAGE POUR 2023

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 2023

En 2023, 25 échantillons de sérum ou de selles provenant de 16 patients ont été analysés en raison d'une suspicion de botulisme humain. Chez aucun de ces patients, le botulisme n'a pu être confirmé en laboratoire.

Pour l'analyse de *C. perfringens*, 24 échantillons humains ont été transmis au CNR. Il s'agissait de 17 échantillons de selles et de 7 isolats bactériens. De plus, en 2023, 2 isolats alimentaires ont été reçus pour l'analyse de *C. perfringens* dans le cadre d'une toxi-infection alimentaire. Lors d'une toxi-infection alimentaire collective (TIAC), *C. perfringens* entérotoxigène a été identifié comme cause. Au total, 45 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 résistance à 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"> ➤ Détection de la neurotoxine botulique (BoNT) par la méthode <i>in vivo</i> ➤ Détection des germes producteurs de BoNT par la méthode <i>in vivo</i> ➤ Détection des germes producteurs de BoNT par qPCR 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Méthode de dénombrement et de confirmation de l'espèce ➤ Détection de l'entérotoxine A par PET-RPLA ➤ Détection de <i>C. perfringens</i> (entérotoxigène) ➤ Détermination du toxinotype par qPCR ➤ Détermination des résistance à une série d'antibiotiques 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Détection de la toxine tétanique par la méthode <i>in vivo</i> ➤ Détermination des anticorps anti-tétanos par ELISA

2.1. ANALYSES POUR CLOSTRIDIUM BOTULINUM

En 2022, un total de 25 échantillons cliniques ont été transmis au CNR pour la détection de *C. botulinum* et la toxine botulique (BoNT). Ces échantillons provenaient de 16 patients différents et ont été prélevés dans le cadre d'une suspicion de botulisme humain. Nous avons reçu pour 8 patients à la fois des selles et du sérum, pour 3 patients uniquement des selles et pour 5 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, aucun *C. botulinum* ni BoNT n'a été détecté dans les échantillons cliniques.

2.2. ANALYSES POUR CLOSTRIDIUM PERFRINGENS

Au total, 24 échantillons humains ont été analysés pour *C. perfringens* en 2022. Il s'agissait de 17 échantillons de selles et 7 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 de selles 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 disque diffusion 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 2023, les résistances antimicrobiennes de 4 souches de *C. perfringens* ont été déterminées par analyse disque diffusion. 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 possible translocation. Plusieurs résistances (clindamycine, pénicilline et piperacilline-tazobactam) ont été détectées dans une souche qui provenait d'une plaie d'un genou. 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>
Cholécystite nécrosante	Type A (cpα)
Douleurs abdominales, fièvre	Type A (cpα)
Abcès périanal	Type A (cpα)
Diarrhée aqueuse, douleurs abdominales, fièvre	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 (≥2 personnes). Aucun n'a permis d'identifier *C. perfringens* comme agent causal. Cependant,

dans 2 échantillons alimentaires provenant d'une autre épidémie, une souche de *C. perfringens* entérotoxigène a été isolée :

- **Hainaut, février 2023**

Dans une école, 45 étudiants et membres du personnel ont souffert de douleurs abdominales après avoir consommé un vol-au-vent. Bien qu'aucun échantillon clinique n'ait été transmis au CNR, une souche de *C. perfringens* a été isolée de la préparation suspecte. Le typage a révélé la présence du gène codant pour l'entérotoxine.

2.3. ANALYSES POUR CLOSTRIDIUM TETANI

En 2023, 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, 742 échantillons ont été reçus et analysés. Dans 5,0 % 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 (1988-2023).

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 ^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
2020	1	B ^c	Miel artisanal (non confirmé)
2021	0		
2022	3	E/B/Inconnu	Plat de poisson (non confirmé) Produits de viande artisanaux (non confirmé) Inconnu ^d
2023	0		

^a cas déclaré par la communauté française

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

^c botulisme infantile

^d Adams et al., 2024

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 2023, une TIAC a été liée à *C. perfringens* entérotoxigène.

Tableau 2 – Cas de toxi-infections alimentaires à *C. perfringens* en Belgique (2013-2023).

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
2023 (1)	Hainaut	45	Aliment	TIAC/2023/HAI/001 : vol-au-vent

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 depuis 2019.

Tableau 3 – Cas de tétanos humain en Belgique

Année	Province	Age	Titre des anticorps antitétanique (UI/mL)	Rappel décennal reçu?
2015 ^a	/	/	/	/
2016 ^a	/	/	/	/
2017 ^a	/	/	/	/
2018 ^a	Flandre-Occidentale	79	Inconnu	Inconnu
2019 ^a	Flandre-Orientale	73	< 0.01	Non
2020	/	/	/	/
2021	/	/	/	/
2022	/	/	/	/
2023	/	/	/	/

^a 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/
- 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
- Adams, L., Lamquet, S., Linussio, J., Van Nieuwenhuysen, T., Vodolazkaia, A., Mukovnikova, M., Parmentier, H., & Herdewyn, S. (2024). Botulism: An overlooked cause of bulbar weakness in intensive care: A case report. *Case Reports in Neurology*, 1–9. <https://doi.org/10.1159/000541500>