



**COMITE SCIENTIFIQUE DE L'AGENCE FEDERALE POUR  
LA SECURITE DE LA CHAINE ALIMENTAIRE**

**Avis 33-2006  
(Conseil 08/2006)**

**Objet:     *Clostridium botulinum* type D dans le miel (Dossier 2006/38)**

Le Comité scientifique de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire,

Vu la loi du 4 février 2000 relative à la création de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire, en particulier l'article 8;

Vu l'arrêté royal du 19 mai 2000 relatif à la composition et au fonctionnement du Comité scientifique institué auprès de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire;

Considérant le règlement d'ordre intérieur visé à l'article 3 de l'arrêté royal du 19 mai 2000 relatif à la composition et au fonctionnement du Comité scientifique institué auprès de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire, approuvé par le Ministre le 27 mars 2006;

Vu la demande, le 26 juillet 2006, de consultation d'urgence du Comité scientifique au sujet du risque pour la santé publique lié à la présence de *Clostridium botulinum* type D dans le miel;

Considérant l'avis provisoire (Raadgeving 08/2006) du 27 juillet et les discussions menées au cours de la séance plénière du 8 septembre 2006;

**donne l'avis suivant :**

**1. Termes de référence**

Lors d'un contrôle de routine dans le secteur de la distribution, l'AFSCA a détecté la présence de *Clostridium botulinum* type D dans 25 g de miel (provenant d'un récipient de 350 g). L'analyse du miel a été faite par l'ISP-Institut Pasteur suivant la méthode décrite par Austin (1998)<sup>1</sup>.

---

<sup>1</sup> Mettre en culture/enrichir l'isolat ; recherche sous forme d'une expérience de léthalité chez les souris, typage au moyen de sérums contre le botulisme.

L'échantillon de miel qui s'est avéré positif pour *C. botulinum* type D provient d'un batch de 3000 kg de miel, obtenu à son tour d'un mélange de 100 tonnes composé de 5 lots de miel de chacun environ 20 tonnes. Ces lots consistent en deux lots de miel mexicain de 2005, 2 lots de miel argentin de 2004 et de 2005 et un lot de miel hongrois de 2005.

La DG Politique de contrôle a soumis au Comité scientifique une demande de consultation d'urgence au sujet des éventuels risques pour la santé publique liés à la présence de *C. botulinum* type D dans le miel.

## 2. Introduction

*C. botulinum* est une bactérie gram-positif capable de former des spores. Le germe sporulé peut survivre longtemps dans l'environnement. Il peut occasionnellement contaminer des plantes ou des animaux et se retrouver ainsi dans la chaîne alimentaire. *C. botulinum* comprend 7 sérotypes (A, B, C, D, E, F, G) basés sur la spécificité sérologique de la neurotoxine produite. Ces toxines sont des protéines neurotoxiques dont le poids moléculaire est compris entre 150 kDa et 167 kDa. Les toxines sont relativement thermolabiles (un chauffage à 80 °C pendant 10 minutes ou à 86 °C pendant 1 minute suffit à inactiver ces toxines) (Dodds & Austin, 1997).

L'espèce *C. botulinum* est subdivisée en quatre groupes (I, II, III, IV) sur base des caractéristiques physiologiques. Les bactéries des groupes I et II produisent des toxines des sérotypes A, B, E et F qui sont associées à l'apparition du botulisme humain. Le groupe III se compose de *C. botulinum* sérotype C et de *C. botulinum* sérotype D.

Plusieurs références scientifiques affirment que le sérotype C et le sérotype D interviennent uniquement dans le développement du botulisme chez les animaux et non dans le développement de botulisme chez les humains (CDC, 1998; Dodds & Austin, 1998; Fach, 1998; Shapiro *et al.*, 1998). Toutefois, la littérature fait également état de certaines hypothèses selon lesquelles les sérotypes C et D pourraient aussi être à l'origine de botulisme humain, mais ces hypothèses n'ont pas été confirmées (Hateway, 1993). Le groupe IV comprend *C. botulinum* sérotype G (Dodds & Austin, 1997).

On peut distinguer des formes différentes de botulisme: l'intoxication alimentaire (formation de toxines préalable dans la denrée alimentaire), la toxi-infection alimentaire (multiplication de *C. botulinum* dans le tractus gastro-intestinal suivi d'une production de toxines), le botulisme par blessure (infection d'une blessure par des spores de *C. botulinum* suivie d'une croissance et d'une production de toxines) et le botulisme infantile (ingestion de spores, germination des spores et production de toxines dans l'intestin des bébés). Ce sont notamment le miel, ainsi que les poussières issues du sol (Chin, 1977) qui sont liés au botulisme infantile. En Europe, 30 des 49 cas de botulisme infantile rapportés ont été associés à la consommation de miel (rapportage depuis 1978) (SCVMPH, 2002). Ces bébés avaient tous moins d'un an et 93 % d'entre eux n'avaient pas 6 mois. Ces cas ont été causés par les sérotypes A, B et E. Dans aucun des cas, *C. botulinum* type D n'était en cause (SCVMPH, 2002).

*C. botulinum* et certaines autres *Clostridia* capables de produire des neurotoxines sont reconnus comme étant le seul danger microbiologique pertinent lié au miel (SCVMPH, 2002).

Il y a des indications que les spores peuvent survivre pendant plusieurs années dans le miel. Même dans des conditions de stockage à une température idéale pour la germination et la croissance, *Clostridium* ne peut se développer dans le miel à cause

de l'activité de l'eau ( $a_w$ ) peu élevée et à cause des propriétés inhibitrices de celui-ci (SCVMPH, 2002 ; Anon, 2000; Snowdon & Cliver, 1996).

*C. botulinum* a été détecté dans du miel provenant de plusieurs pays avec une prévalence variant de 2 % à 23 %. On a par exemple signalé des prévalences de 10, 8.5, 7.5, 6.5 et 23 % aux Etats-Unis, au Japon, au Brésil, en Italie et au Japon, respectivement (SCVMPH, 2002).<sup>2</sup> Plus récemment, des spores de *C. botulinum* (types A et B) ont été détectées dans 7 % des échantillons prélevés dans du miel produit en Finlande et dans 16 % des échantillons prélevés dans du miel importé en Finlande (SCVMPH, 2002). Au Brésil, on a constaté une prévalence de 7.0 % de *C. botulinum* dans le miel, dont aussi le sérotype D (Schocken *et al.*, 1999). En Belgique, 4 échantillons ont été analysés pour l'AFSCA en 2005, qui se sont tous révélés négatifs. En 2006, on a déjà analysé 13 échantillons dont 1 s'est révélé positif pour *C. botulinum* type D. On ne dispose pas de résultats antérieurs à 2005 (Kimpe, 2006).

Il ressort de certaines études que dans le cas où *C. botulinum* est présent dans le miel, il s'agit le plus souvent de 1 à 10 spores de *C. botulinum* par kg. Le miel associé au botulisme des bébés contient environ  $10^4$  de spores de *C. botulinum* par kg (Dodds & Austin, 1997).

Le botulisme humain est très rare en Belgique. Entre 1990 et 2004, 9 cas, causés soit par le sérotype A, soit par le sérotype B, ont été constatés. Dans 8 de ces cas, l'origine du botulisme était liée à l'alimentation (jambon cuit, jambon cru, pommes de terre aux oignons et au lard, olives) alors que pour l'autre cas, l'origine n'est pas connue. Aucun des cas ne trouve son origine dans le miel et aucun cas humain ne concernait *C. botulinum* sérotype D. Par contre, des cas de botulisme causés par le sérotype D ont été détectés chez des animaux (volailles et bovins), en Belgique comme dans certains autres pays (Ducoffre, 2005).

### 3. Evaluation des risques liés à la non-conformité

Vu qu'on ne peut pas exclure que le miel peut contenir des spores de *C. botulinum* et vu que le miel a été décrit comme une source d'infection chez les nourrissons, le Conseil Supérieur d'Hygiène conseille dans un avis de décembre 2001 que la Belgique devrait recommander de ne pas donner de miel aux enfants de moins de 12 mois (CSH 7460/ADM1590).

Comme indiqué ci-dessus, il s'avère que le *C. botulinum* de type D n'est pas associé au botulisme humain. L'entreprise productrice du miel a effectué, dans le cadre de son plan HACCP<sup>3</sup>, certains contrôles sur les fournitures de matières premières. L'échantillon de miel trouvé positif par l'AFSCA pour *C. botulinum* type D provient d'un batch de 3000 kg de miel, issu à son tour d'un mélange de 100 tonnes composé de 5 lots de miel d'environ 20 tonnes. Une seule analyse sur les bactéries anaérobies sulfo-réductrices anaérobies (*Clostridia*) a été effectuée sur chaque lot. La limite de détection pour cette analyse est de  $10 \text{ ufc}^4$  de bactéries anaérobies sulfito-réductrices par gramme. Deux des cinq lots ont donné un résultat supérieur à  $10 \text{ ufc}$  de bactéries anaérobies sulfo-réductrices par gramme. Sur ces deux lots, des

---

<sup>2</sup> Il est à remarquer que la prévalence dépend de la sensibilité de la méthode d'analyse utilisée.

<sup>3</sup> Analyse du risque et des points de contrôle critiques (Hazard Analysis and Critical Control Point)

<sup>4</sup> ufc : unités formant colonie

analyses de confirmation ont été effectuées avec une limite de détection de 10 ufc de *C. botulinum* par gramme. Ces analyses étaient négatives. (La méthode de confirmation de *C. botulinum* n'est pas précisée).

Il ressort de ces résultats d'analyse peu nombreux de l'entreprise productrice de miel que dans un 'worst case scenario', il y aurait une présence de 10 ufc de *C. botulinum* de type D par gramme de miel. Or, pour qu'il y ait une production de toxines par *C. botulinum*, une concentration d'au moins  $10^5$ - $10^6$  ufc de *C. botulinum* par gramme de denrée alimentaire est requise (Daifas *et al.*, 1999; Briozzo *et al.*, 1983). La croissance et la production de toxines de *C. botulinum* dans le miel ne peuvent avoir eu lieu, vu que la valeur  $a_w$  requise est de 0.94 au minimum, et que la valeur  $a_w$  du miel est de moins de 0.60 (Dodds & Austin, 1997; ICMSF, 1996). Cependant, cette croissance peut bien avoir lieu dans le tube digestif des enfants de moins d'un an à cause du développement insuffisant de la production d'acides dans l'estomac de ces enfants (SCVMPH, 2002).

La représentativité de l'échantillonnage est toutefois remise en question, vu le faible nombre d'échantillons prélevés (1 échantillon par lot de 20 tonnes).

#### **4. Conclusion**

La présence de *C. botulinum* de type D a été détectée dans du miel lors d'un contrôle de routine dans le secteur de la distribution effectué par l'AFSCA. Jusqu'ici, seul le *C. botulinum* des types A, B, E et F a été associé à l'apparition de botulisme humain.

Vu que, pour l'instant, *C. botulinum* de type D n'est pas associé au botulisme humain et considérant le 'worst case scenario' décrit ci-dessus en ce qui concerne la présence de *C. botulinum* par gramme, et vu que la croissance et la production de toxines ne peuvent avoir lieu dans le miel, le risque pour la santé publique est évalué comme très faible par le Comité Scientifique.

Le Comité Scientifique attire toutefois l'attention sur le fait qu'en raison de la sensibilité au botulisme des enfants de moins d'un an et de la présence sporadique de spores de *C. botulinum* dans le miel, il est recommandé de ne pas donner de miel aux enfants de cette catégorie d'âge. Il recommande dès lors de porter la mention "ne convient pas aux enfants de moins d'un an" ou "ne pas donner aux enfants de moins d'un an" sur tous les récipients de miel mis en vente dans le commerce de détail.

Pour le Comité scientifique,  
Le Président,

Prof. Dr. Ir. André Huyghebaert.  
Bruxelles, le 18 septembre 2006

## Références :

- Austin, J. (1998). Detection of *Clostridium botulinum* in honey and syrups (1998). Health protection branch, government of Canada. [http://66.249.93.104/search?q=cache:iojiGKPdfswJ:www.hc-sc.gc.ca/fn-an/alt\\_formats/hpfb-dgpsa/pdf/res-](http://66.249.93.104/search?q=cache:iojiGKPdfswJ:www.hc-sc.gc.ca/fn-an/alt_formats/hpfb-dgpsa/pdf/res-).
- Anon, 2000. Microorganisms in honey. National honey board, 390 Lashley street, Longmont, CO 80501. ([www.nhb.org](http://www.nhb.org)).
- Briozzo, J., De Lagarde, E., Chirife, J., Parada, J. (1983). *Clostridium botulinum* Type A Growth and Toxin Production in Media and Process Cheese Spread. Appl. Environ. Microbiol. 45, 1150-1152.
- CDC, Centers for Disease Control and Prevention (1998). Botulism in the United States, 1899-1996. Handbook for Epidemiologists, Clinicians, and Laboratory Workers, Atlanta, GA. Centers for Disease Control and Prevention, 1998. [http://www.cdc.gov/NCIDOD/DBMD/diseaseinfo/files/botulism\\_manual.htm#I](http://www.cdc.gov/NCIDOD/DBMD/diseaseinfo/files/botulism_manual.htm#I).
- Chin, J., Arnon S.S., Midura T.F. (1979). Food and environmental aspects of infant botulism in California. Rev Infect. Dis. 1, 693-697.
- Conseil Supérieur d'Hygiène (2001). Avis du Conseil Supérieur d'Hygiène concernant le Botulisme infantile et le miel. CSH 7640/ADM1590.
- Daifas, D., Smith, J., Blanchfield, B., Austin, J. (1999). Growth and Toxin Production by *Clostridium botulinum* in Crumpets Packaged Under Modified Atmospheres. J. Food Prot. 62, 349-355.
- Dodds K.L. & Austin J.W., (1997). *Clostridium botulinum*. In : Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers. Doyle M.P., Beuchat L.R. and Montville T.J. American Society for Microbiology (January 1997).
- Fach P. et Perelle S., (1998). *Clostridium perfringens* et *C. botulinum*. In : Manuel de bactériologie alimentaire. Sutra L., Federighi M. et Jouve J.-L., 1998. Paris : Polytechnica.
- Hatheway, (1993). *Clostridium botulinum* and other clostridia that produce botulinum neurotoxin. In Hauschild, A.H.W. & Dodds, K.L. (eds) "Clostridium botulinum : Ecology and Control in Food", Marcel Dekker Inc., New York, pp. 3-20.
- ICMSF (1996). Microorganisms in food 5. Characteristics of Microbial pathogens. Blackie Academic & Professional, London, 503 pp.
- Kimpe, A. (2006). ISP-Institut Pasteur. Communication personnelle.
- SCVMPH, (2002). Opinion of the Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health on Honey and Microbiological Hazards. 19-20 June 2002. Health & Consumer Protection Directorate-General.
- Shapiro, R.L., Hatheway, C. and Swerdlow, D.L., (1998). Botulism in the United States: a clinical and epidemiologic review. Ann. Intern. Med. 1998, Aug 1; 129(3):221-8.
- Snowden, J.A., Cliver, D.O. (1996). Microorganisms in honey (review). Int. J. Food Microbiol., 31, 1-26.
- Ducoffre, G. (2005). Rapport annuel 2004 sur la surveillance des maladies infectieuses par un Réseau de Laboratoires de Microbiologie. Institut Scientifique de Santé publique, Section Epidémiologie. Rapport D/2005/2505/32, décembre 2005 ; <http://www.iph.fgov.be/epidemie/epifr/plabfr/plabanfr/index04.htm>
- Schocken-Iturrino, R.P., Carneiro, M.C., Kato, E., Sorbara, J.O., Rossi, O.D. & Gerbasi, L.E., (1999). Study of the presence of the spores of *Clostridium botulinum* in honey in Brazil. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 1999, Jul; 24(3):379-82.