



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

**Avis 34-2006
(Conseil 10/2006)**

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

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 9 août 2006, de consultation d'urgence du Comité scientifique au sujet du risque pour la santé publique lié à la présence de *Clostridium botulinum* type B et type D dans le miel;

Considérant l'avis provisoire (Raadgeving 10/2006) du 16 août 2006 et les discussions menées au cours de la séance plénière du 8 septembre 2006;

donne l'avis suivant :

1. INTRODUCTION

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 *Clostridium botulinum* dans le miel. Cette demande résulte de la détection de la présence de *C. botulinum* de type B dans du miel suite à une première détection de *C. botulinum* de type D lors de contrôles de routine effectués par l'AFSCA dans le secteur de la distribution. L'analyse du miel a été faite par l'ISP-Institut Pasteur suivant la méthode décrite par Austin (1998)¹.

2. GÉNÉRALITÉS

Clostridium botulinum

C. botulinum est une bactérie anaérobie gram-positive capable de former des spores. Le germe peut se trouver notamment dans la terre, la boue et les plantes déperies. Il peut également être présent dans le tractus gastro-intestinal des animaux et des humains. Suite à une contamination de plantes ou d'animaux, *C. botulinum* peut se retrouver dans la chaîne alimentaire.

C. botulinum est subdivisé en 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 associés à l'apparition de botulisme humain. Les souches de *C. botulinum* appartenant au groupe I se retrouvent surtout dans le sol alors que les souches du groupe II sont associées principalement à un environnement aqueux. Ces dernières ont aussi une température optimale de croissance inférieure (Lindström & Korkeala, 2006). Le groupe III comprend *C. botulinum* sérotype C et *C. botulinum* sérotype D.

Plusieurs références scientifiques affirment que le sérotype C et le sérotype D interviennent uniquement dans le développement de 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 le *C. botulinum* sérotype G (Dodds & Austin, 1997).

Le botulisme humain

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 (Ducoffre, 2005).

¹ 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.

On peut distinguer plusieurs formes de botulisme, dont l'intoxication alimentaire (formation de toxines préalable dans la denrée alimentaire), la toxi-infection alimentaire (développement de *C. botulinum* dans le tractus gastro-intestinal suite à l'ingestion de germes ou de spores, et suivi par une production de toxines) et le botulisme par blessure (infection d'une blessure par des spores de *C. botulinum* suivie d'une croissance et d'une production de toxines). La toxi-infection alimentaire est très rare ; de façon générale, la flore intestinale empêche la colonisation de *Clostridium* dans le tractus gastro-intestinal. Or, des personnes dont la flore intestinale a subi une modification suite à une chirurgie abdominale, un traitement antimicrobien prolongé ou une affection gastro-intestinale, peuvent être sensibles à ce type d'infection. D'autre part, les bébés, chez qui la flore intestinale n'est pas encore suffisamment développée, sont sensibles, eux aussi. Dans ce dernier cas, on parle de botulisme infantile.

Le botulisme infantile est principalement associé au miel ainsi qu'à la poussière et à d'autres matières présentes dans l'environnement (Lindström & Korkeala, 2006; Chin, 1977). L'affection est causée surtout par les souches de *C. botulinum* appartenant au groupe I, sans doute parce que la température optimale de croissance de ces souches est proche de la température du corps. On a aussi décrit certains cas de botulisme infantile associés à la production de toxines de types E et F, produites respectivement par *Clostridium butyricum* et *Clostridium baratii* (Lindström & Korkeala, 2006; Nevas, 2006). 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 (SCVMPH, 2002).

La dose infectieuse minimale des spores de *C. botulinum* pour les enfants n'est pas connue de façon précise. Sur base de données d'exposition, elle a été estimée à une valeur de 10 à 100 spores (SCVMPH, 2002).

Prévalence de *C. botulinum* dans le miel

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). Le miel destiné à la consommation directe est parfois chauffé (pasteurisation) ou filtré, mais les spores de *C. botulinum* ne sont ni détruites ni éliminées par cette opération.

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 multiplier 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).² 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 provenance de Finlande (Nevas, 2006). Au Brésil, on a constaté une prévalence de 7.0 % de *C. botulinum* dans le miel (types A, B et D) (Schocken *et al.*, 1999). En Belgique, 4 échantillons ont été analysés pour l'AFSCA en 2005, qui se sont tous

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

révélés négatifs. En 2006, on a déjà analysé 14 échantillons dont 1 s'est révélé positif pour *C. botulinum* type D et 1 positif pour le type B. On ne dispose pas de résultats d'avant 2005 (Kimpe, 2006).

Le miel associé au botulisme infantile, contient environ 10^3 - 10^4 spores de *C. botulinum* par kg (Nevas, 2006; Dodds & Austin, 1997).

3. ÉVALUATION DES RISQUES LIÉS À LA PRÉSENCE DE *C. BOTULINUM* DANS LE MIEL

L'entreprise productrice du miel a effectué, dans le cadre de son plan HACCP³, 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 (*Clostridia*) a été effectuée sur chaque lot. La limite de détection pour cette analyse est de 10 ufc⁴ de bactéries anaérobies sulfo-réductrices par gramme. Deux des cinq lots ont donné un résultat supérieur à 10 ufc de bactéries anaérobies sulfo-réductrices par gramme. Sur ces deux lots, des 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).

Un deuxième échantillon de miel a été trouvé positif pour *C. botulinum* type B par l'AFSCA. Dans ce cas, le résultat de l'analyse portant sur les bactéries anaérobies sulfo-réductrices était inférieur à 10 ufc de bactéries anaérobies sulfo-réductrices par gramme pour tous les lots.

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* type D par gramme de miel. Or, pour qu'il y ait 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 lieu vu que la valeur a_w requise est de 0.94 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 et de l'immaturité de la flore intestinale chez ces enfants (SCVMPH, 2002). Par ailleurs, la distribution de la contamination dans le produit n'est pas toujours homogène et les doses potentiellement dangereuses pour les bébés sont très faibles. Par conséquent, dans le pire des cas du 'worst case scenario', le produit fini pourrait contenir 10 spores et serait capable de provoquer une infection potentiellement mortelle chez un bébé.

Vu le faible nombre d'échantillons prélevés (1 échantillon par lot de 20 tonnes), la représentativité de l'échantillonnage est remise en question, d'autant plus qu'il ressort de la littérature que les spores de *C. botulinum*, si elles sont présentes, ne sont pas réparties de façon homogène dans le miel (Nevas, 2006). Vu la viscosité du miel, il est difficile d'obtenir un échantillon homogène et il est indiqué d'analyser plus qu'un seul échantillon. De ce fait, de plus amples données quantitatives sont nécessaires afin de pouvoir éliminer le risque de botulisme infantile.

Dans un avis du Conseil Supérieur d'Hygiène publié en décembre 2001 (CSH 7460/ADM1590), on peut lire que, parmi les tests microbiologiques le plus souvent

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

⁴ ufc : unités formant colonie

utilisés pour valider la qualité microbiologique des denrées alimentaires, la détection de *Clostridium* sulfo-réductrices (< 10ufc/g) ne permet pas d'exclure un niveau de contamination potentiellement dangereux aux *C. botulinum* pour les bébés les plus sensibles. D'autre part, cet avis affirme qu'aucun des tests faits actuellement ne permet de garantir la sécurité d'une consommation par les bébés, et que, en raison du fait que les tests sont faits sur un échantillon aléatoire prélevé au cours de la production, ceux-ci ne permettent probablement pas d'exclure la présence d'une contamination non homogène et d'un niveau faible dans un lot contrôlé. La conclusion de l'avis était que la Belgique devrait recommander de ne pas donner du miel à des enfants âgés de moins d'un an.

4. CONCLUSION

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

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 (à l'exception des enfants âgés de moins d'un an) est évalué comme très faible par le Comité Scientifique. Néanmoins, vu la sensibilité au botulisme des enfants âgés de moins d'un an et vu la présence sporadique et non homogène de spores de *C. botulinum* dans le miel, le Comité Scientifique souhaite souligner qu'il est recommandé de ne pas donner de miel aux enfants de cette catégorie d'âge. Le Comité Scientifique recommande dès lors fortement 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.

D'autre part, le Comité Scientifique fait aussi remarquer que les personnes dont la flore intestinale a été affaiblie ou déstabilisée suite à un traitement ou une affection et qui, de ce fait, courent également un risque, devraient être informées par leur médecin traitant.

Pour le Comité scientifique,
Le Président,

Prof. Dr. Ir. André Huyghebaert
Bruxelles, le 19 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-.
- Anon, 2000. Microorganisms in honey. National honey board, 390 Lashley street, Longmont, CO 80501. (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.
- 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.
- Lindström M and Korkeala H. Laboratory diagnostics of botulism. Clin. Microbiol.Rev. 19, 298-314.
- Nevas M. (2003). *Clostridium botulinum* in honey production with respect to infant botulism. Academic dissertation, Faculty of Veterinary Medicine, University of Helsinki, Finland.
- 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/epidemi/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.