

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 20 décembre 2019

## **AVIS** **de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,** **de l'environnement et du travail**

**relatif à la mise à jour des fiches de description de danger biologique transmissible par les aliments**

---

*L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.*

*L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.*

*Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part à l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.*

*Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L. 1313-1 du code de la santé publique).*

*Ses avis sont publiés sur son site internet.*

---

L'Anses s'est autosaisie pour la réalisation de la mise à jour des fiches suivantes de description de danger biologique transmissible par les aliments :

- le 30 mars 2016 concernant la fiche relative à *Clostridium botulinum* (saisine n°2016-SA-0074) ;
- le 1<sup>er</sup> décembre 2016 concernant la fiche relative aux Vibrions entérotoxigènes (saisine n°2016-SA-0272).

### **1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE**

Afin d'aider les professionnels de la filière agroalimentaire à maîtriser la sécurité sanitaire et à rédiger des guides de bonnes pratiques d'hygiène, l'Anses met à leur disposition des fiches de description des dangers biologiques transmissibles par les aliments.

Ces travaux concernent la mise à jour de certaines de ces fiches.

### **2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE**

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'expertise relève du domaine de compétences du Comité d'experts spécialisé « Évaluation des risques biologiques dans les aliments » (CES BIORISK). Les travaux ont été discutés et validés en séance sur la base d'une fiche de danger initiale rédigée par des rapporteurs :

- le 18 octobre 2016 concernant la mise à jour de la fiche relative à *Clostridium botulinum* (2016-SA-0074), suivie d'une mise à jour en août 2019 concernant le tableau de caractéristiques des *Clostridium* et les données épidémiologiques ;
- le 10 avril 2018 concernant la fiche relative aux Vibrions entérotoxigènes (2016-SA-0272), suivie d'une mise à jour en décembre 2019 concernant la surveillance dans les aliments.

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont rendues publiques via le site internet de l'Anses ([www.anses.fr](http://www.anses.fr)).

### 3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES BIORISK

Suite à l'expertise collective, les fiches suivantes de danger biologique transmissible par les aliments ont été mises à jour et sont jointes en annexe :

- *Clostridium botulinum*, *Clostridium* neurotoxigènes ;
- Vibrions entéro-pathogènes : *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* non-O1/ non-O139 et *Vibrio vulnificus*.

### 4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail endosse les fiches de danger biologique transmissible par les aliments mises à jour par le CES BIORISK.

Dr Roger Genet

### MOTS-CLES

Danger biologique ; aliments ; *Clostridium botulinum* ; *Clostridium* neurotoxigènes ; *Vibrio parahaemolyticus* ; *Vibrio cholerae* non-O1/ non-O139 ; *Vibrio vulnificus*

Biological hazards ; food ; *Clostridium botulinum* ; neurotoxigenic *Clostridium* ; *Vibrio parahaemolyticus* ; non-O1/ non-O139 *Vibrio cholerae* ; *Vibrio vulnificus*

### ANNEXE 1

Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments : *Clostridium botulinum*, *Clostridium* neurotoxigènes

Saisine n°2016-SA-0074, mise à jour : Août 2019

### ANNEXE 2

Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments : Vibrions entéro-pathogènes : *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* non-O1/ non-O139 et *Vibrio vulnificus*

Saisine n°2016-SA-0272, mise à jour : Décembre 2019

# *Clostridium botulinum*, *Clostridium* neurotoxigènes

Famille des *Clostridiaceae*

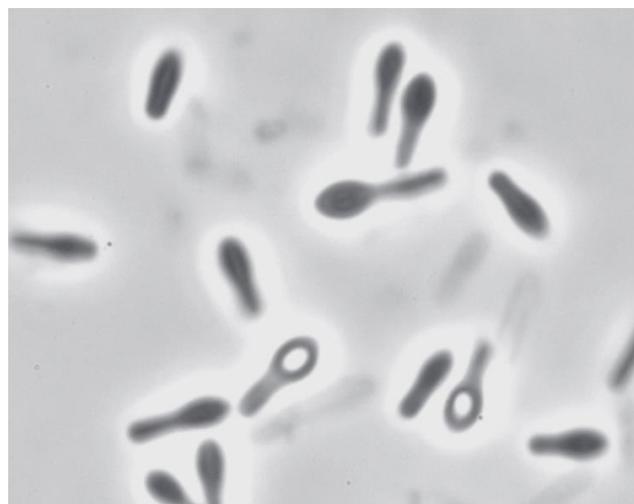
Bactérie

Agent zoonotique <sup>1</sup>

## Caractéristiques et sources de *Clostridium botulinum* et des *Clostridium* neurotoxigènes

### Principales caractéristiques microbiologiques

Les *Clostridium botulinum* sont responsables de sévères intoxications alimentaires chez l'Homme et les animaux (botulisme) par ingestion de toxine préformée dans un aliment (intoxication) ou par colonisation intestinale et production de toxine *in situ* (toxi-infection). Ce sont des bacilles à Gram positif, anaérobies stricts et sporulés. Les souches de *C. botulinum* sont très hétérogènes d'après leurs caractères culturels, biochimiques et génétiques et sont divisées en quatre groupes. De plus, certaines souches atypiques, plus rarement isolées en Europe, et appartenant



*C. botulinum* de type A. © M. Popoff - Institut Pasteur

à d'autres espèces de *Clostridium*, sont aussi neurotoxigènes : *C. butyricum* (neurotoxine botulique E) et *C. baratii* (neurotoxine botulique F). À quelques exceptions près, chaque souche produit un seul type de toxine botulique. Les toxines botuliques se divisent en sept types (A à G) selon leurs propriétés immunologiques, chacune étant neutralisée par un sérum spécifique.

De plus, selon leurs séquences en acides aminés, des sous types sont identifiés dans chaque type de toxine botulique (Tableau 1).

**Tableau 1** : Caractéristiques de survie, de croissance et de toxinogénèse des *C. botulinum* et des *Clostridium* neurotoxigènes en conditions de laboratoire (mise à jour août 2019)

	<i>C. botulinum</i> Groupe I Protéolytique			<i>C. botulinum</i> Groupe II Non protéolytique			<i>C. botulinum</i> Groupe III Non protéolytique			<i>C. botulinum</i> Groupe IV Protéolytique			<i>C. butyricum</i> Groupe V			<i>C. baratii</i> Groupe VI		
	Min.	Opt.	Max.	Min.	Opt.	Max.	Min.	Opt.	Max.	Min.	Opt.	Max.	Min.	Opt.	Max.	Min.	Opt.	Max.
<b>Toxines</b>	A, B, F			B, E, F			C, D			G			E			F		
Sous types de toxines	A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7, A8, B1, B2, B3, B5, B6, B7, B8, bivalent B (Ba, Bf, Ab), F1, F2, F3, F4, F5, F8, X			E1, E2, E3, E6, E7, E8, E9, E10, E11, E12, B4 ou non protéolytique B, F6 ou non protéolytique F			C, D, C/D, D/C			G			E4, E5			F7		
<b>Bactéries apparentées non toxigènes</b>	<i>C. sporogenes</i>			Aucune à ce jour			<i>C. novyi</i>			<i>C. argentinense</i>			<i>C. butyricum</i>			<i>C. baratii</i>		
<b>Croissance</b>	Min.	Opt.	Max.	Min.	Opt.	Max.	Min.	Opt.	Max.	Min.	Opt.	Max.	Min.	Opt.	Max.	Min.	Opt.	Max.
Température (°C)	10	35-40	48	2,5	18-25	45	15	37-40	/	/	37	/	12	3-37	/	10	30-45	/
pH	4,6	/	9	5	7	9	5,1	6,1-6,3	9	4,6	7	/	4,8	7	/	3,7	7	/
a <sub>w</sub>	0,94	/	/	0,97	/	/	0,97	/	/	0,94	/	/	/	/	/	/	/	/
% NaCl inhibant la croissance	10			5			5			10			/			8,5		
<b>Production de toxines</b>																		
Température min (°C)	10			3			15			/			12			10		
a <sub>w</sub> min	0,94			0,97			0,97			0,94			/			/		

<sup>1</sup> Agent responsable de maladie ou d'infection qui peut se transmettre de l'animal à l'Homme ou de l'Homme à l'animal.

## Sources du danger

Le réservoir de *C. botulinum*, comme des autres *Clostridium*, est l'environnement : sol, poussière, sédiments marins ou d'eau douce, eaux souillées, lisiers, et occasionnellement le contenu digestif de l'Homme et des animaux asymptomatiques.

Il existe des répartitions géographiques différentes selon les types de *C. botulinum*. Ainsi, *C. botulinum* A est fréquemment rencontré dans le sol à l'Ouest des Etats-Unis et en Amérique du Sud, le type B en Europe et à l'Est de l'Amérique du Nord, et le type E dans les pays du Nord de l'hémisphère Nord. Cependant, *C. botulinum* A et B sont moins associés à une zone géographique du fait de la multiplicité des échanges économiques. Les types C et D se rencontrent plus particulièrement dans les pays à climat chaud et pendant les saisons chaudes dans les pays de climat tempéré.

Le botulisme est une maladie humaine et animale, mais il n'y a pas de transmission directe documentée entre un animal atteint de botulisme et l'Homme. Par ailleurs, il n'existe pas de lien épidémiologique démontré entre les foyers de botulisme humain et les foyers de botulisme animal.

Le botulisme animal est le plus souvent dû aux types C (oiseaux, visons), ou D (bovins, palmipèdes). Par ailleurs *C. botulinum* se retrouve également dans le tube digestif d'animaux asymptomatiques : porc (type B), poissons de la mer Baltique (type E). Les sources de contamination de l'animal sont alimentaires et les mesures de prévention consistent en la maîtrise de la contamination des aliments pour animaux et le retrait rapide des animaux morts.

## Voies de transmission

La maladie n'est pas transmissible entre individus. Elle résulte le plus souvent d'ingestion d'un aliment contaminé. Trois formes de botulisme peuvent être distinguées selon le mode de contamination.

**L'intoxication botulique** est due à l'ingestion de toxine botulique préformée dans un aliment. C'est la forme la plus fréquente chez l'adulte.

**La toxi-infection botulique** causée par l'ingestion de bactéries et/ou spores de *C. botulinum*. Cette forme a été observée chez des jeunes enfants (0-12 mois, botulisme infantile), suite à l'ingestion de miel ou par inhalation de poussières contaminées par des spores de *C. botulinum*. Le botulisme par toxi-infection peut être aussi observé chez des adultes (cf. maladie humaine).

**Le botulisme par blessure** est causé par l'inoculation des spores de *C. botulinum* dans une plaie, par exemple chez les toxicomanes qui utilisent par injection des drogues ou matériel contaminés, ou exceptionnellement, suite à l'injection de toxine botulique à des fins thérapeutiques ou cosmétologiques.

## Maladie humaine d'origine alimentaire

### Nature de la maladie (tableau 2)

Le botulisme se caractérise par des paralysies flasques, symétriques, sans atteinte du système sensoriel. Les types de botulisme A, B, E et F sont les plus fréquents chez l'Homme. La gravité des signes cliniques dépend de la quantité de toxine botulique absorbée et du type de toxine, le botulisme de type A étant le plus grave avec insuffisance respiratoire d'installation plus rapide et plus sévère que dans les autres types de botulisme.

**Tableau 2** : Caractéristiques de la maladie

Durée moyenne d'incubation	Principaux symptômes	Durée des symptômes	Complications
5 h - 8 jours 12 - 48 h le plus souvent	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Troubles digestifs (vomissements, diarrhées) observés de façon inconstante en début d'évolution (environ 30-50%)</li> <li>- Constipation fréquente en fin d'évolution (20-70%)</li> <li>- Paralysie des muscles de l'accommodation : vision floue, diplopie, mydriase (70-100%)</li> <li>- Paralysies au niveau buccal : sécheresse de la bouche, difficultés de déglutition et d'élocution (80-100%)</li> <li>- Formes les plus graves : paralysie des membres (de faiblesse des membres à paraplégie) et des muscles respiratoires (50-80%)</li> <li>- Possibilité de formes frustes (troubles visuels et/ou troubles de la déglutition)</li> </ul>	Quelques jours à 8 mois	Décès par insuffisance respiratoire  (létalité : 0 - 5% en France, jusqu'à 25% selon la prise en charge médicale)

**Population sensible<sup>2</sup>** : Tous les individus sont susceptibles de développer une intoxication botulique suite à l'ingestion de la toxine préformée dans un aliment.

Les nourrissons (< 12 mois) en raison de leur flore intestinale, incomplètement constituée ou incomplètement fonctionnelle, sont sensibles à une toxi-infection botulique par germination, multiplication de *C. botulinum* dans l'intestin et production de toxine *in situ*. Le botulisme par toxi-infection alimentaire est aussi observé chez les adultes ayant subi une chirurgie digestive ou atteints de carcinomes intestinaux, de lésions chroniques de la muqueuse intestinale, d'anomalies anatomiques ou fonctionnelles de l'intestin, d'inflammation chronique, ou après une antibiothérapie.

### Relations dose-effet<sup>3</sup>

La toxine botulique est à ce jour considérée comme le poison le plus puissant. La toxine botulique A est la plus active. La dose létale chez un Homme adulte est estimée à 100 ng – 1 µg par voie parentérale et 70 µg par voie orale (1 µg par kg de poids corporel).

En général, l'ingestion unique de quelques grammes d'aliment contenant de la toxine botulique est suffisante pour déclencher un botulisme. Chez un nouveau-né ou un jeune enfant, l'ingestion d'une dizaine à une centaine de spores est capable de causer une toxi-infection, soit la quantité de spores que pourraient contenir quelques mg d'un aliment comme le miel ou quelques poussières.

### Épidémiologie

Le botulisme humain est une maladie à déclaration obligatoire. En France, depuis 1991, le nombre médian de cas déclarés (suspectés et confirmés) est de 23 avec une étendue de 5 à 44. Dans la période 2007-2017, 174 cas de botulisme ont été confirmés. Les quatre derniers cas mortels ont été observés en 1997, 2010, 2015 et 2016. Les foyers sont majoritairement associés à la toxine de type B. Deux foyers inhabituels (5 cas au total) étaient dus à *Clostridium baratii* F en 2014 et 2015.

L'incidence du botulisme dans les autres pays est variable et dépend de nombreux facteurs tels que les habitudes alimentaires, ou la prévalence de *C. botulinum* dans l'environnement. Aux États-Unis, le botulisme infantile est la forme de botulisme prédominante ; dans d'autres pays c'est le botulisme par blessure qui est le plus fréquent.

## Rôle des aliments

### Principaux aliments à considérer

Les matières premières alimentaires sont contaminées par des bactéries/spores de *Clostridium* neurotoxigènes à partir de l'environnement (cf. sources du danger). Certaines denrées peuvent être contaminées par l'intermédiaire d'épices ou de condiments (poivre, ail, etc.).

Les conditions de préparation et de conservation des denrées déterminent ensuite une éventuelle germination des spores, la croissance des bactéries ainsi que la toxinogénèse. La présence de toxine botulique dans les aliments manufacturés peu acides est souvent due à un défaut de maîtrise du procédé d'appertisation (notamment température de cuisson/stérilisation, pH,  $a_w$ , recontamination après traitement thermique). La toxine botulique est stable dans les aliments sur une longue période. Les aliments à risque pour le consommateur sont des aliments conservés peu acides.

Les aliments les plus souvent impliqués dans les foyers de botulisme sont des conserves et des produits de fabrication familiale ou artisanale tels que :

- mortadelle, jambon cru salé et séché, charcuteries (saucisse, pâté) [toxine de type B] ;
- conserves de végétaux (asperges, haricots verts, carottes et jus de carotte, poivrons, olives à la grecque, potiron, tapenade, etc.), salaisons à base de viande de bœuf [toxine de type A] ;
- poisson salé et séché, marinades de poisson, emballé sous vide [toxine de type E].

Le miel contaminé par des spores de *C. botulinum* est le seul aliment connu pour la transmission du botulisme infantile.

Exceptionnellement, des produits industriels peuvent être impliqués (2 foyers en 2008, 4 foyers en 2011-2012, 3 foyers en 2013-2015). L'origine alimentaire d'un des foyers à *C. baratii* en 2015 était une sauce bolognaise préparée à partir de viande hachée industrielle et servie dans un restaurant.

**Tableau 3** : Données épidémiologiques relatives au botulisme en France (2007-2017) - (mise à jour août 2019)

Année	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Foyers	6	6	10	7	9	8	11	4	14	13	4
Cas	11	9	25	24	17	10	19	11	22	21	5
Dont cas botulisme infantile	1	1	2		1	1	4		1	1	1
Décès	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0

<sup>2</sup> Les personnes ayant une probabilité plus forte que la moyenne de développer, après exposition au danger par voie alimentaire [dans le cas des fiches de l'ANSES], des symptômes de la maladie, ou des formes graves de la maladie.

<sup>3</sup> Relation entre la dose (la quantité de cellules microbiennes ou de toxines ingérées au cours d'un repas) et l'effet chez un individu

## Traitements d'inactivation en milieu industriel

**Tableau 4** : Impact des traitements en milieu industriel

Traitement	Conditions	Impact	Matrice
Température	La thermorésistance de <i>C. botulinum</i> varie entre groupes et au sein des groupes. En ce qui concerne les groupes I et II, un consensus international définissant des barèmes conférant un niveau de sécurité acceptable est établi. Les souches protéolytiques du groupe I possèdent les spores les plus thermorésistantes, les souches non protéolytiques du groupe II sont les plus thermosensibles. Valeurs de D <sup>4</sup> et z <sup>5</sup> pour les spores de <i>C. botulinum</i> * : <i>C. botulinum</i> Groupe I : D <sub>121,1°C</sub> = 0,21 min <i>C. botulinum</i> Groupe II : D <sub>80°C</sub> = 0,6-1,25 min <i>C. botulinum</i> Groupe III : D <sub>104°C</sub> = 0,1-0,9 min <i>C. botulinum</i> Groupe IV : D <sub>104°C</sub> = 0,8-1,12 min* z = 10°C Les spores sont résistantes à la congélation. * Variable selon les souches		
Désinfectants	Les spores sont sensibles à la majorité des désinfectants autorisés en IAA, sous réserve de suivre les modalités d'utilisation recommandées.		
	Chlore libre 4,5 ppm (m/v) (pH 6,5), 5-10 min	Inactivation des spores de <i>C. botulinum</i> A, B et E	
Hautes pressions	Les spores de <i>C. botulinum</i> sont très résistantes à la pression. Les spores peuvent être inactivées par la combinaison d'un traitement thermique et d'un traitement par hautes pressions		
Ionisation	Valeur de D <sub>10</sub> <sup>6</sup> pour les spores D <sub>10</sub> (T°C ≤ -18) = 2 - 4,5 kGy (Groupe I) D <sub>10</sub> (T°C ≤ -18) = 1,0 - 2,0 kGy (Groupe II)		Aliments congelés

## Surveillance dans les aliments

Il n'existe pas de critère microbiologique dans la réglementation européenne pour *C. botulinum* dans les aliments. Il n'existe pas de méthode normalisée pour la détection de *C. botulinum*. La détection de *C. botulinum* est basée sur la recherche de toxine (test *in vivo*, ELISA, test d'activité enzymatique) et la mise en évidence de la bactérie par culture d'enrichissement suivie de la détection de toxine et/ou des gènes codant pour les neurotoxines (PCR essentiellement). La recherche de *C. botulinum* dans les aliments n'est pas pratiquée en routine, car la recherche de la toxine ne peut se faire que dans des conditions de sécurité particulières.

## Recommandations aux opérateurs

- Appertisation des conserves non acides : tout produit alimentaire de pH égal ou supérieur à 4,5 doit être soumis à un traitement garantissant une efficacité stérilisatrice (valeur stérilisatrice<sup>7</sup> F<sup>10</sup><sub>121,1</sub> ≥ 3 min) adéquate contre les spores de *C. botulinum*.
- Respect des recommandations de l'ACMSF<sup>8</sup> pour éviter un développement de *C. botulinum*, en particulier du groupe II (psychrotrophes), dans les produits peu acides ayant subi ou non un traitement thermique minimal et distribués réfrigérés :
  - Conservation à < 3°C, ≤ 5°C si DLC (date limite de consommation) ≤ 10 jours, 5-10°C si DLC ≤ 5 j.
  - Conservation à 8°C si traitement thermique 90°C/10 min, ou 85°C/36 min, ou 80°C/129 min, ou 75°C/464 min, ou 70°C/1675 min.
  - Conservation à 8°C si pH ≤ 5, ou NaCl ≥ 3,5%, ou a<sub>w</sub> ≤ 0,97.
  - Salaisons : le sel nitrité (150 mg maximum de nitrites /kg de produit) est l'inhibiteur de croissance de *C. botulinum* le plus efficace.
  - Bonnes pratiques d'hygiène en apiculture pour limiter la contamination du miel par *C. botulinum*.

<sup>4</sup> D est le temps nécessaire pour diviser par 10 la population du danger microbiologique initialement présente.

<sup>5</sup> z est la variation de température (°C) correspondant à une variation d'un facteur 10 du temps de réduction décimale (D).

<sup>6</sup> D<sub>10</sub> est la dose (en kGy) nécessaire pour diviser par 10 la population du danger microbiologique initialement présente.

<sup>7</sup> F<sub>0</sub> : durée en minutes d'un traitement thermique appliqué à cœur du produit à la température de référence de 121,1°C

<sup>8</sup> Advisory Committee on the Microbiological Safety of Food - Food Standards Agency UK

## Hygiène domestique

### Recommandations aux consommateurs

- Hygiène de la préparation des aliments à conserver (nettoyage soigneux des végétaux, hygiène de l'abattage des animaux à la ferme et de la préparation des viandes, propreté des récipients et des emballages).
- Respect des consignes de stérilisation des fabricants (températures/temps, nombre d'unités de conserves par stérilisateur). Une cuisson par ébullition est insuffisante pour stériliser les denrées alimentaires.
- Les boîtes de conserve déformées/bombées ou celles dégageant une odeur suspecte à l'ouverture ne doivent pas être consommées. Lors de l'ouverture des bocaux de verre, le bruit provoqué par l'entrée d'air doit être entendu.
- Pour les jambons de préparation familiale, il est impératif de respecter les concentrations en sel de la saumure et le temps de saumuration de façon à ce que les concentrations en NaCl et en nitrites inhibitrices de la croissance de *C. botulinum* atteignent le cœur du jambon.
- Le respect de la chaîne du froid est indispensable pour les préparations n'ayant pas subi de traitement thermique ou l'ayant subi à un niveau insuffisant.
- Pour les denrées du commerce, il est nécessaire de respecter les consignes de conservation au froid et les dates limites de consommation.
- Ne pas faire consommer du miel aux enfants de moins de 12 mois.

## Liens

### Références générales

- AFSSA (2002). Rapport sur le botulisme d'origine aviaire et bovine.
- Carter AT, Peck MW. Genomes, neurotoxins and biology of *Clostridium botulinum* Group I and Group II. *Res Microbiol* 2015; 166 (4):303-317.
- Castor C, Mazuet C, Saint-Leger M, Vygen S, Coutureau J, Durand M, et al. Cluster of two cases of botulism due to *Clostridium baratii* type F in France, November 2014. *Euro Surveill.* 2015; 20: 1-3.

EFSA (2005). Opinion of the BIOHAZ panel related to *Clostridium* spp in foodstuffs. *The EFSA Journal*, 199: 1-65.

FSA (Food Standards Agency) (2008). Food standards agency advice on the safety and shelf-life of vacuum and modified atmosphere packed chilled foods with respect to non-proteolytic *Clostridium botulinum*.

[www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/publication/vacpacguide.pdf](http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/publication/vacpacguide.pdf)

ICMSF(International Commission on Microbiological Specifications for Foods) (1996). *Clostridium botulinum*. In: Roberts T. A, Baird Parker A. C., Tompkin R. B (Eds.) *Micro-organisms in Foods 5: Microbiological Specifications of Food Pathogens*, pp. 66-111. Blackie Academic and Professional, London.

Lund, B.M. and Peck, M.W. (2013) *Clostridium botulinum*. In *Guide to Foodborne Pathogens*, Second Edition eds. Labbé, R.G. and Garcia, S.: John Wiley & Sons

Mazuet C, King LA, Bouvet P, Legeay C, Sautereau J, Popoff MR (2014). Le botulisme humain en France, 2010-2012. *BEH.* 2014; 6: 106-114.

Peck MW, Stringer SC, Carter AT (2011). *Clostridium botulinum* in the post-genomic era. *Food Microbiol* 2011; 28 (2):183-191.

Peck, M.W., Smith, T.J., Anniballi, F., Austin, J.W., Bano, L., Bradshaw, M., Cuervo, P., Cheng, L.W., Derman, Y., Dörner, B.G., et al. (2017). Historical Perspectives and Guidelines for Botulinum Neurotoxin Subtype Nomenclature. *Toxins (Basel)* 9, 38.

Pingeon J, Vanbockstael C, Popoff M, King L, Deschamps B, Pradel G, et al (2011). Two outbreaks of botulism associated with consumption of green olive paste, France, September 2011. *Euro Surveill.* 2011; 16: 1-3.

Popoff M. R., Carlier J. P., Poulain B. (2009). Botulisme, In: EMC (Ed.) *Maladies Infectieuses*, pp. 1-17. Elsevier Masson SAS, Paris.

Popoff MR, Mazuet C, Poulain B. Botulism and tetanus (2013). *The prokaryotes: Human microbiology*. 4<sup>e</sup> ed. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag 2013; 247-290.

Popoff, M.R. (2018). Botulinum toxins, Diversity, Mode of Action, Epidemiology of Botulism in France. In *Botulinum Toxin*, S. Nikolai, ed. (London: IntechOpen) Smith TJ, Hill KK, Raphael BH (2015). Historical and Current Perspectives on *Clostridium botulinum* Diversity. *Res Microbiol* 2015; 166 (4):290-302.

Trehard H, Poujol I, Mazuet C, Blanc Q, Gillet Y, Rossignol F, et al (2016). A cluster of three cases of botulism due to *Clostridium baratii* type F, France, august 2015. *Euro Surveill.* 2016; 21.

### Liens utiles

Centre National de Référence des bactéries anaérobies et du botulisme, Institut Pasteur : <http://www.pasteur.fr/fr/sante/centres-nationaux-referance/les-cnr/bacteries-anaerobies-et-botulisme>

Santé publique France : <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/maladies-infectieuses-d-origine-alimentaire/botulisme>

# Vibrions entéropathogènes : *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 et *Vibrio vulnificus*

Famille des *Vibrionaceae*

Genre *Vibrio*

Bactérie

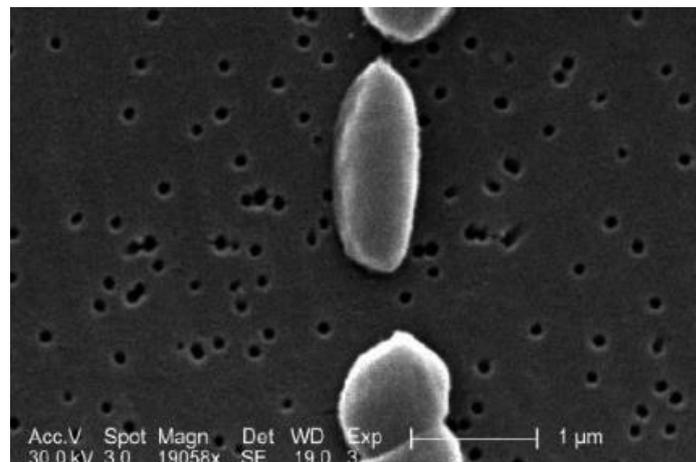
Agent zoonotique <sup>1</sup>

Cette fiche concerne les vibrions non cholériques (VNC) suivants : *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* et *Vibrio cholerae* des sérogroupes non-O1/non-O139 et ne traite pas des souches de *Vibrio cholerae* des sérogroupes O1 ou O139, agents du choléra.

## Caractéristiques et sources de *Vibrio parahaemolyticus* et *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 et *Vibrio vulnificus*

### Principales caractéristiques microbiologiques

Les infections à *Vibrio* par voie alimentaire se manifestent principalement par des gastroentérites. Les bactéries du genre *Vibrio* sont des bactéries halophiles de forme bacillaire, mobiles, plus ou moins incurvées, d'une longueur comprise entre 1,4 et 2,6 µm, à coloration de Gram négative, anaérobies facultatives. Leur survie est très dépendante de la température et du pH, elle est inhibée à des températures inférieures à 13°C mais cette valeur peut varier selon les valeurs de pH et la concentration en sel. Le temps de génération à 37°C est de 8 à 9 minutes au laboratoire et de 12 à 18 minutes dans les produits de la mer. Ainsi, en 2 à 3 h à température ambiante, une multiplication de la population



*Vibrio parahaemolyticus* © CDC/ Janice Carr

par un facteur 1000 peut être observée.

Parmi les souches de *V. parahaemolyticus*, seules sont considérées comme pathogènes celles qui possèdent au moins une des deux hémolysines produites dans le tube digestif humain : la TDH (*Thermostable Direct Hemolysin*) ou la TRH (*TDH-Related Hemolysin*).

Pour les souches de *V. cholerae* non-O1/non-O139, les facteurs de pathogénicité majeurs ne sont pas clairement identifiés à ce jour, *a priori* elles ne sont pas considérées comme pathogènes, sauf si elles sont porteuses des gènes de la toxine cholérique.

Pour *V. vulnificus*, en l'absence de marqueur connu pour distinguer les souches virulentes des souches avirulentes, toutes les souches sont considérées comme pathogènes.

### Sources du danger

Les bactéries du genre *Vibrio* sont naturellement présentes dans l'environnement marin et estuarien à l'état libre ou associées à des sédiments, des particules en suspension, du plancton. Elles sont également retrouvées dans l'intestin et sur les tissus des poissons, crustacés et coquillages. Leur concentration évolue en fonction de la température de surface de l'eau, de la salinité, de la turbidité, du pH, ou encore de la teneur en chlorophylle A. On observe une abondance maximale pendant les mois les plus chauds de l'année et dans les eaux de mer chaudes. Selon des études récentes, le réchauffement climatique crée un environnement favorable au développement des vibrions.

**Tableau 1** : Caractéristiques de croissance de *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* et *V. cholerae* non-O1/non-O139 (en conditions de laboratoire)

Croissance	<i>V. parahaemolyticus</i>			<i>V. cholerae</i> non O1/non O139			<i>V. vulnificus</i>		
	Min.	Opt.	Max.	Min.	Opt.	Max.	Min.	Opt.	Max.
Température (°C)	5	37	43	10	37	143	13	37	43
pH	4,8	7,8-8,6	11	5	7,8-8,6	9,6	5	7,8	10
a <sub>w</sub>	0,94	0,98	0,99	0,97	0,98	0,99	0,96	0,98	0,99
%NaCl inhibant la croissance	0,5	3	10	0	0-3	7	0,5	2,5	5

<sup>1</sup> Agent responsable de maladie ou d'infection qui peut se transmettre de l'animal à l'Homme ou de l'Homme à l'animal.

### Recommandations pour la production primaire

- Appliquer les bonnes pratiques d'hygiène.
- Utiliser de l'eau de mer propre<sup>2</sup> ou de l'eau propre<sup>2</sup> pour l'alimentation en eau des viviers de poissons et crustacés, la manipulation et le lavage des produits de la pêche.
- Limiter au mieux le temps d'émersion des coquillages à température ambiante (>10°C) lors des manipulations sur zone de production.
- Respecter scrupuleusement les températures réglementaires lors des manutentions et du transport des crustacés.
- Maintenir les coquillages vivants hors eau à une température inférieure à 10°C (ex. transport).

### Voies de transmission

Les infections à VNC par voie alimentaire se font principalement par la consommation de poissons et de fruits de mer crus, insuffisamment cuits, ou recontaminés après cuisson par transfert de contamination.

La voie alimentaire est rarement en cause dans les infections à *V. vulnificus*, la voie cutanée étant la principale voie de transmission (exposition de blessure préexistante au milieu marin contaminé, blessure lors de la manipulation de coquillages contaminés). La voie cutanée peut être responsable de formes septicémiques chez les personnes immunodéprimées.

### Maladie humaine d'origine alimentaire

#### Nature de la maladie

**Tableau 2** : Caractéristiques de la maladie

	Durée moyenne d'incubation	Principaux symptômes	Durée des symptômes	Complications
<i>V. parahaemolyticus</i>	12 à 24 h (pouvant varier entre 4 et 96 heures)	- Douleurs abdominales, crampes, diarrhées aqueuses. Parfois diarrhées sanglantes, nausées, vomissements et fièvre. - La maladie est souvent bénigne ou modérée.	1 à 3 jours en moyenne, peut aller jusqu'à 7 jours	Quelques cas nécessitent une hospitalisation. Exceptionnellement septicémie chez des sujets immunodéprimés ou atteints de maladies sous-jacentes.
<i>V. cholerae</i> non-O1/non-O139	De quelques heures à 5 jours maximum	- Diarrhées aqueuses modérées dans la majorité des cas. - Crampes abdominales, fièvres et diarrhées sanglantes pour une minorité de patients. - Syndromes cholériformes (diarrhées aqueuses sévères).	5 jours en moyenne	- Bactériémie chez des patients immunodéprimés ou présentant une pathologie hépatique ou digestive. - Pathologies extra-intestinales invasives évoluant vers une bactériémie avec fièvre, frissons et choc septique associées à un taux de létalité proche de 40%.
<i>V. vulnificus</i>	De 12h à 48h (parfois jusqu'à 21 jours)	Gastroentérites bénignes : fièvre, diarrhées, douleurs abdominales, nausées et vomissements.	De 2 à 8 jours	Évolution spontanée vers la guérison.
	Durée moyenne de 4 jours (de 7h à 10 jours)	Septicémie chez des sujets immunodéprimés ou atteints de maladies sous-jacentes ; fièvre, vomissements, diarrhées, douleurs abdominales, douleurs des extrémités, choc septique. Ulcères nécrotiques ou gangreneux sur des membres dans 60% des cas.	Durée moyenne de la période septique de 24h à 72h	Létalité pouvant atteindre 35%.
	Quelques heures	Septicémie foudroyante avec état de choc.	Quelques heures	Létalité : 65 à 75%.

<sup>2</sup> Le règlement (CE) 852/2004 définit l'eau propre et l'eau de mer propre comme « ne contenant pas de micro-organismes, de substances nocives ou de plancton marin toxique en quantité susceptible d'avoir une incidence directe ou indirecte sur la qualité sanitaire des denrées alimentaires »

Les infections à VNC transmises par les aliments se manifestent dans la grande majorité des cas par une gastroentérite. Les infections à *V. vulnificus* peuvent toutefois être associées à des septicémies avec un taux de létalité élevée chez des hôtes immunodéprimés (diabète, cancers) ou atteints de maladies sous-jacentes telles que des maladies hépatiques chroniques (hépatite, cirrhose, alcoolisme) ou des maladies exposant à une surcharge en fer.

### Relations dose-effet<sup>3</sup> et dose-réponse<sup>4</sup>

L'ordre de grandeur de la dose infectant 50% (DI<sub>50</sub>)<sup>5</sup> des personnes exposées est de 3.10<sup>6</sup> pour *V. parahaemolyticus* (FDA 2005, ANSES 2012). Pour *V. vulnificus*, la FDA s'appuie sur des données épidémiologiques pour fixer à 1000 cellules la dose susceptible de provoquer l'apparition de la maladie. Il n'y a pas de données connues pour *V. cholerae* non-O1/non-O139.

### Épidémiologie

Les souches de *V. cholerae* non-O1/non-O139 et de *V. parahaemolyticus* peuvent être à l'origine de cas sporadiques ou de cas groupés, suite à l'exposition à une source commune de contamination. Il n'y a pas de transmission interhumaine de ces infections. Les infections à *V. vulnificus* surviennent toujours sous forme de cas isolés.

Dans le Sud-Est asiatique et en Amérique du Nord, *V. parahaemolyticus* constitue un réel problème de santé publique en raison de la consommation importante de produits de la mer crus. Aux États-Unis, le CDC (2015) observe une augmentation de 52% de l'incidence des infections à VNC par voie alimentaire depuis 2006, 63% des cas étant liés à l'espèce *V. parahaemolyticus* et 10% à *V. cholerae* non-O1/non-O139. En Italie 3,4% des cas hospitalisés pour gastroentérites aiguës sont attribués à *V. cholerae* non-O1/non-O139.

Des cas d'infection alimentaire dus à *V. vulnificus* sont rapportés en Asie, essentiellement au Japon, et en Amérique du Nord. Aux États-Unis, une centaine de cas sont rapportés chaque année, 90% d'entre eux étant associés à la consommation d'huîtres crues. De plus *V. vulnificus* y est la principale cause de décès lié à la consommation de fruits de mer.

En France, les infections à VNC n'étant pas soumises à déclaration obligatoire, leur incidence est probablement sous-évaluée en particulier pour les formes les moins sévères. En revanche, il est probable que le centre national de référence (CNR) des vibrions soit informé de la majorité des cas entraînant une hospitalisation. Le CNR confirme une moyenne annuelle d'environ 10 cas d'infection par des VNC (une augmentation notable a été observée en 2017 avec 27 cas confirmés) dont 70% des cas dus à *V. cholerae* et *V. parahaemolyticus*.

La majorité des cas autochtones surviennent entre juin et octobre et sont diagnostiqués surtout dans les régions côtières. Entre 1995 et 2016, près de 50% des cas français d'infection alimentaire à *V. cholerae* non-O1/non-O139 dont le CNR a eu connaissance ont été contractés à l'étranger (principalement dans des pays à faible niveau d'hygiène).

En France métropolitaine comme en Europe, on ne rapporte aucun cas à *V. vulnificus* par transmission alimentaire, les cas recensés étant uniquement associés à des contaminations par voie cutanée. À noter cependant, qu'en 2008, trois cas de choc septique à *V. vulnificus* liés à la consommation d'huîtres crues et entraînant le décès des patients en quelques heures ont été rapportés en Nouvelle-Calédonie.

### Rôle des aliments

#### Principaux aliments à considérer

La contamination des produits par les VNC se fait par le milieu naturel ou par transfert de contamination lors de la manipulation (contamination par le rinçage à l'eau de mer contaminée ou recontamination après cuisson). Toute rupture de la chaîne du froid contribue au développement des vibrions.

La majorité des gastro-entérites à *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae* non-O1/non-O139 et *V. vulnificus* impliquent les coquillages (huîtres, moules), les crustacés (crevettes, crabes) et les poissons crus.

Concernant les infections contractées à l'étranger, elles étaient liées à la consommation de produits de la mer ou de fruits ou crudités contaminés par les eaux usées d'origine domestique utilisées comme eaux d'irrigation.

**Tableau 3** : Souches de VNC responsables d'infections humaines survenues en France métropolitaine de 1995 à 2017 (CNR)

Espèce	Nombre de souches reçues au CNR	Formes cliniques (nombre de cas)	Nombre de décès	Contexte de contamination
<i>V. parahaemolyticus</i>	46	Gastroentérite (40)	0	Consommation de produits de la mer dans 90% des cas.
<i>V. cholerae</i> non O1/nonO139	121	Gastroentérite (58) Gastroentérite suivie de septicémie (15)	1	Consommation de produits de la mer documentée dans 60% des cas.
<i>V. vulnificus</i>	3	Septicémie primaire (3)	3	Consommation d'huîtres en Nouvelle-Calédonie.

<sup>3</sup> Relation entre la dose (la quantité de cellules microbiennes ingérées au cours d'un repas) et l'effet chez un individu.

<sup>4</sup> Pour un effet donné, relation entre la dose et la réponse, c'est-à-dire la probabilité de la manifestation de cet effet, dans la population.

<sup>5</sup> La DI<sub>50</sub> est la dose qui provoque l'apparition de l'infection de 50% des individus exposés.

## Traitements d'inactivation en milieu industriel

**Tableau 4** : Impact des traitements d'inactivation

Traitement	Conditions	Impact	Matrice
Température	<b>Chaleur</b> 52°C pendant 7,8 min 50°C pendant 5 min 50°C pendant 10 min <b>Froid</b> 1 mois à -20°C,	5 réductions décimales 1,8 réductions décimales 5,6 réductions décimales 1 réduction décimale	Chair d'huître
Désinfectants	Les vibrions sont sensibles à de nombreux désinfectants autorisés en IAA, sous réserve de suivre les modalités d'utilisation recommandées.		
Hautes pressions	345 MPa 2 minutes à 21°C 200 MPa 2 minutes à 21°C	5 réductions décimales 3,3 réductions décimales	Chair d'huître
Ionisation	1 kGy	6 réductions décimales	Chair d'huître

La plupart des données du tableau 4 ont été obtenues pour *V. parahaemolyticus* mais sont transposables aux trois espèces.

### Surveillance dans les aliments

Actuellement, le règlement (CE) n° 2073/2005 et ses actes modificatifs ne prévoient pas de critère microbiologique spécifique dans les aliments pour les vibrions pathogènes pour l'Homme, mais préconisent la mise au point de méthodes fiables pour « les risques liés à *V. parahaemolyticus* » dans les mollusques bivalves vivants.

En France, il n'existe pas de plan de surveillance ou plan de contrôle systématique défini par la DGAL ou la DGCCRF pour les bactéries du genre *Vibrio*. La recherche des *Vibrio* pathogènes pour l'Homme dans les produits de la mer présentés à l'importation peut cependant être demandée par le Ministère chargé de l'agriculture et de la pêche. En cas de contamination par une souche de VNC pathogène (cf. paragraphe Principales caractéristiques microbiologiques) ou par *V. vulnificus* (dans des produits de la pêche importés de régions du monde où la contamination par voie digestive a été documentée), les lots non conformes doivent être retirés du marché, identifiés en tant que sous-produits animaux de catégorie 2 dans les meilleurs délais et traités comme tels conformément à l'article 13 du règlement (CE)

#### Recommandations aux opérateurs

- Limiter le temps entre la récolte ou la pêche et la première réfrigération du produit.
- Appliquer les bonnes pratiques d'hygiène.
- Prendre en considération le danger *Vibrio* pour les filières concernées, lors de l'analyse des dangers.
- Respecter scrupuleusement les températures réglementaires lors des manutentions et du transport, ainsi que lors de la présentation dans les lieux de distribution et de vente.
- Maintenir les coquillages vivants à une température inférieure à 10°C.

n°1069/2009 (DGAL/SDSSA/2019-486 du 02/07/2019).

Il existe une méthode de référence normalisée (NF EN ISO 21872-1) pour la recherche mais pas pour le dénombrement des espèces de *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* et *Vibrio vulnificus* potentiellement entéropathogènes.

Des méthodes de PCR conventionnelle ou en temps réel pour la quantification et la caractérisation de *Vibrio* ont été développées ou sont en cours de développement.

### Hygiène domestique

Un produit faiblement contaminé mais conservé à une température inadaptée peut rapidement atteindre une concentration suffisamment élevée pour affecter une grande proportion des consommateurs.

#### Recommandations aux consommateurs

- Considérer que la consommation des fruits de mer crus en été augmente le risque de gastroentérite causée par *Vibrio*.
- Placer les produits de la pêche le plus rapidement possible au froid.
- Respecter les bonnes pratiques d'hygiène lors de la manipulation et de la préparation des aliments : i) consommer dans les deux heures qui suivent la sortie du réfrigérateur et ii) éviter le contact entre des aliments cuits et des fruits de mer crus pour limiter les transferts de contamination.
- Pour les patients atteints de maladie hépatique chronique (hépatite, cirrhose, alcoolisme), maladie exposant à une surcharge en fer, ou pour les patients immunodéprimés (diabète, cancers), présentant une sensibilité accrue aux infections à *Vibrio*, éviter de manger des fruits de mer crus ou insuffisamment cuits (huîtres, moules, palourdes, crevettes notamment).

## Liens

### Références générales

Anses, 2012. Évaluation du risque lié à *Vibrio parahaemolyticus* lors de la consommation de coquillages vivants.

Austin, B., Swings, J. (eds). 2006. Biology of Vibrios. ASM Press, Washington, DC.

FDA, 2005. Quantitative risk assessment on the public health impact of pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in raw oysters.

Food safety consultations, Risk assessment of *Campylobacter* spp. in broiler chickens and *Vibrio* spp. in seafood. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation (Bangkok, Thailand). 2002, 59p. Thompson, F.L.

Quilici ML, Robert-Pillot A (2011) Infections à vibrions non cholériques. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Maladies infectieuses 8-026-F-15.

### Laboratoires de références

Centre national de référence des vibrions et du choléra : Institut Pasteur, Paris.

Laboratoire national de référence pour *Vibrio* spp. dans les produits de la pêche : Anses, laboratoire des produits de la pêche de Boulogne-sur-mer.

Laboratoire national de référence pour la microbiologie des coquillages : Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer (IFREMER) – Nantes.

Santé publique France :  
<https://www.santepubliquefrance.fr/>

### Autres liens utiles

Avis et rapport de l'Anses relatif à une demande d'évaluation du risque lié à *Vibrio parahaemolyticus* via la consommation de produits de la mer. 2012  
<https://www.anses.fr/fr/system/files/BIORISK2010sa0301Ra.pdf>

Centers for Disease Control and Prevention (CDC):  
<https://www.cdc.gov/vibrio/index.html>

U.S. Food and Drug administration (FDA) Bacteriological Analytical Manual, Chapter 9, *Vibrio*:  
<https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-vibrio>

Guides de Bonnes Pratiques d'Hygiène et d'application des principes HACCP, Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation : <http://agriculture.gouv.fr/guides-de-bonnes-pratiques-dhygiene-gbph>