

COMMUNICATIONS

Sur une épidémie de botulisme humain Enquête et hypothèses étiologiques : Rôle possible du fromage et des paillons

G. GILLES, J. JOUGLARD, M. SEBALD (1)
présenté par M. J. JACQUET (2)

Le botulisme humain, qui a été exceptionnellement signalé en Suisse, peut être considéré comme très rare en France puisque le nombre des cas diagnostiqués annuellement à l'Institut Pasteur a été de 20 en 1971, 37 en 1972, 38 en 1973 (sans tenir compte de l'épidémie ici étudiée). On peut admettre en première approximation que ces chiffres correspondent à 50 p. 100 des cas survenus en France pendant ces périodes.

Une véritable épidémie apparue en Suisse et en France (dans la ville de Marseille) au cours de l'été 1973 présente donc un intérêt particulier, puisqu'elle concerne 75 cas.

Le fait que l'aliment incriminé soit du fromage mérite, par ailleurs, de retenir l'attention, les statistiques antérieures mettant rarement en cause cet aliment.

DESCRIPTION DE L'ÉPIDÉMIE ÉTUDIÉE

En 10 jours, entre le 28 juillet et le 6 août 1973, le Centre Anti-poisons de Marseille a eu connaissance de 10 cas de botulisme de forme commune, bénigne, à évolution prolongée.

(1) Laboratoire des Services Vétérinaires, Marseille. Centre Anti-Poisons, Marseille. Laboratoire des Anaérobies, Institut Pasteur, Paris.

(2) Séance du 21 février 1974.

La symptomatologie, essentiellement oculaire, a conduit ce Centre à effectuer une enquête auprès des divers ophtalmologistes de la ville de Marseille, du Département des Bouches-du-Rhône, des Départements limitrophes.

Par ailleurs, des contacts ont été immédiatement établis avec les divers Centres Anti-poisons Français et Européens.

A Marseille, cette enquête a permis de rassembler, entre le 11 et le 27 août, 22 nouveaux cas. Dans les Bouches-du-Rhône, aucun autre foyer n'a été retrouvé en dehors de Marseille. Dans les Départements limitrophes (Var, Vaucluse, Gard, Alpes-Maritimes, Alpes-de-Haute-Provence) aucun cas n'a été signalé.

Les Centres Anti-poisons Européens ont répondu dans le même sens en ce qui concerne la Belgique, l'Italie, l'Allemagne. Par contre, le Centre Anti-poisons de Zurich signalait, le 9 août 1973, qu'il avait connaissance de 10 malades présentant une symptomatologie caractéristique. L'enquête complémentaire effectuée par le Centre Suisse permettait de recenser 43 cas à la date du 22 août.

Grâce à une coopération très étroite entre le Centre Anti-poisons de Marseille et le Centre Anti-poisons de Zurich, une étude très précise de cette épidémie a pu être effectuée.

A Marseille, tous les malades indentifiés ont présenté à des degrés divers une symptomatologie clinique de botulisme avec sécheresse buccale, troubles de l'accommodation, mydriase, constipation. La symptomatologie visuelle a été dans tous les cas dominante. Il s'agissait uniquement de formes prolongées ayant évolué vers la guérison.

L'étude analytique des diverses observations faites sur les malades a été publiée par ailleurs (6, 11).

CONFIRMATION DU DIAGNOSTIC CLINIQUE ET TYPAGE DU GERME RESPONSABLE

L'aliment en cause n'ayant pas été conservé, c'est la mise en évidence d'une toxémie (1) qui, à elle seule, a permis de confirmer le diagnostic clinique avec typage du *Clostridium botulinum* : tous les examens positifs ont révélé, aussi bien en France qu'en Suisse, une toxine de type B.

L'intérêt de la mise en évidence d'une toxémie botulique dans le diagnostic du botulisme humain de type B et la technique utilisée pour l'identification et le dosage de la toxine ont été, à

diverses reprises, signalés par l'un de nous (9, 10). Rappelons, par ailleurs, sur le plan de la pathologie comparée que la toxémie, sa précocité, ses rapports avec la dose employée, ses possibilités d'utilisation dans le diagnostic, ont été mises en évidence en 1952 par JACQUET et PRÉVOT (4, 5) dans le botulisme D expérimental du cheval.

Les résultats obtenus dans la présente épidémie (34 p. 100 de toxémies positives) ont été consignés dans leur détail dans une autre publication (11). Si l'on n'en a pas découvert davantage, c'est parce que beaucoup de malades, connus après enquête, ont été examinés tardivement, la moyenne des toxémies ayant persisté 13-14 jours après le repas contaminant.

DONNÉES ÉPIDÉMIOLOGIQUES

L'épidémie de Marseille (32 cas diagnostiqués) a été localisée à 19 familles différentes, de niveau social modeste. En Suisse par contre (43 cas) les malades étaient dispersés dans tout le pays et correspondaient à des personnes de haut niveau social. Cette discordance amenait à penser que l'aliment toxique (s'il s'agissait du même) devait être une denrée du commerce, d'origine Française, de consommation courante en France et plus rare en Suisse.

Une enquête alimentaire a été faite à Marseille en donnant aux malades une liste de 60 aliments connus comme étant botuligènes, et en leur demandant de noter ceux qu'ils avaient ingéré au cours des huit jours précédents. Étaient fréquemment en commun les jambons, olives, fromages de Brie. Les résultats d'une enquête identique effectuée au Centre Anti-poisons de Zurich amenaient à ne pas incriminer les olives. Le rôle du jambon pouvait être éliminé au travers du fait que dans plusieurs familles, des enfants en avaient consommé sans qu'aucun parmi eux n'ait été malade.

Par contre, les échanges d'informations avec Zurich permettaient très vite d'acquiescer la certitude qu'aussi bien en Suisse qu'à Marseille nombreux parmi les malades étaient ceux qui se souvenaient avoir consommé du fromage de Brie. Celui-ci, d'origine française, provenait d'une même usine qui fut rapidement identifiée.

Il est regrettable qu'aucun fragment de fromage consommé par les malades n'ait pu être retrouvé et analysé. GRECZ, WAGENAAR et DACK ont vérifié expérimentalement que les spores et

cellules végétatives de *C. botulinum* type A peuvent se conserver plusieurs années dans certains fromages et que la toxine correspondante reste stable jusqu'à 60 jours à 30° (2, 3). Il en est vraisemblablement de même pour *C. botulinum* type B.

La recherche de toxine botulique et de bacilles effectuée à partir de lots ultérieurement saisis chez divers commerçants, ou fournis par le fabricant lui-même, s'est, dans tous les cas, révélée négative.

L'enquête épidémiologique permet, toutefois, à partir de certains faits précis, d'émettre une hypothèse sur l'étiologie de la présente épidémie.

A Marseille, le fromage incriminé correspondait à du Brie vendu au détail (portions débitées à partir de roues de 2 kg environ). Les arguments suivants sont en faveur de sa suspicion :

Plusieurs fromages identiques ainsi vendus chez différents commerçants de la ville, installés dans des quartiers souvent éloignés, avaient été à l'origine d'accidents. En revanche, tous les consommateurs de portions provenant d'un même fromage n'avaient pas été malades.

L'enquête devait très vite révéler que ces gros fromages avaient été le plus souvent présentés à la vente et débités sur des pailons, par des journées de grosse chaleur. De nombreux consommateurs se souvenaient que la pâte était « coulante », ou qu'il s'agissait d'un fromage « bien fait ». Cette dernière information est importante car le pH normal d'un Brie — à l'origine inférieur à 4,5 — n'offre pratiquement pas de possibilités de culture pour des spores de *C. botulinum* qui ne se développent pas en milieu acide. Mais, à un stade plus avancé de la maturation, lorsque, justement, la pâte a tendance à couler, on assiste rapidement à une évolution vers la neutralité, suivie d'une très nette alcalinisation surtout en surface. Le développement de spores et la multiplication des cellules végétatives de *C. botulinum* sont alors possibles dans un milieu, par ailleurs très riche en éléments nutritifs et suffisamment épais pour offrir de bonnes conditions d'anaérobiose. Cette circonstance pourrait avoir été la cause favorisante qui a permis, dans des zones limitées, une culture microbienne accompagnée de production de toxine. Ce développement et cette toxinogénèse auraient été vraisemblablement limités, ce qui explique la bénignité des formes cliniques constatées.

L'origine des spores ayant contaminé primitivement la denrée est, certes, difficile à établir avec certitude. Mais, divers éléments

de l'enquête nous amènent à penser que c'est aux paillons que pourrait incomber cette responsabilité. En effet :

a) un demi-fromage conservé et débité plié dans son emballage d'origine en papier ne semble avoir provoqué aucun trouble. L'autre moitié, ultérieurement détaillée sur paillon, a été à l'origine de plusieurs accidents ;

b) dans une même famille, ce sont les personnes servies les premières, donc, celles ayant consommé la partie coulante en contact avec le paillon qui, seules, ont été malades ;

c) une vendeuse du rayon crèmerie d'un Supermarché a fait une des formes les plus graves, après avoir consommé des restants de pâte adhérents à un paillon et récupérés par raclage avec un couteau. On peut imaginer que la pâte, en coulant, se soit trouvée au contact de la paille contaminée ou que le couteau utilisé pour couper des portions ait, après essuyage sur le paillon (comme c'est souvent l'habitude) véhiculé des spores.

Le fait que plusieurs fromages commercialisés chez différents détaillants aient été à l'origine d'intoxications s'expliquerait facilement, car les paillons sont livrés indépendamment des fromages, par lots, aux grossistes fromagers. Divers lots ont fort bien pu être préparés à partir d'une paille renfermant des spores de *C. botulinum*, ou secondairement contaminés.

D'après les renseignements qui nous ont été fournis par la fromagerie d'origine, des circonstances identiques existaient en Suisse où des paillons de même provenance avaient été expédiés avec les fromages. Le conditionnement en portions individuelles, emballées sous enveloppe étanche, peut être retenu comme ayant secondairement réalisé une anaérobiose favorable au développement des spores.

L'examen bactériologique de quelques paillons récupérés à Marseille, chez le grossiste répartiteur, ne nous a pas permis d'isoler des *C. botulinum*. Mais la qualité bactériologique de ces paillons s'est révélée déplorable. Six sur neuf présentaient de nombreuses souillures macroscopiques avec des traces d'excréments. A partir de simples raclages de surface, effectués au niveau de ces zones, la flore microbienne massive était constituée essentiellement de Bacillaceae, de *Clostridium sulfito-réducteurs* et de Streptocoques du groupe D. Dès lors, il n'est pas illogique de supposer l'apport exceptionnel, par cette voie, de *C. botulinum*. L'enquête effectuée nous a permis d'apprendre que la paille utilisée était achetée en vrac, provenait de pays du centre de

l'Europe, et ne subissait aucun traitement particulier d'assainissement.

Nous tenons à signaler que des lots ultérieurs de paillons examinés étaient tout à fait propres ; peut-être la souillure accidentelle de ceux incriminés, est-elle la cause de la contamination supposée.

En conséquence, bien que l'hypothèse émise n'ait pu être bactériologiquement vérifiée, nous pensons que le problème posé par la présente épidémie mérite de retenir l'attention des hygiénistes alimentaires. Si notre suspicion se confirmait, et surtout si une étude bactériologique sur un nombre suffisant d'échantillons le démontrait, une législation interdisant l'utilisation de pailles non assainies, pour la présentation de certaines denrées alimentaires consommées sans cuisson préalable, nous apparaîtrait comme souhaitable.

Quoi qu'il en soit, il convient de remarquer l'extrême rareté des botulismes humains par ingestion de fromages. Une revue de la microbiologie des « Spread cheese » a été faite par MEYER et EDDIE (7) en 1951 à l'occasion d'un cas mortel de type B survenu aux U. S. A. et dû à un fromage emballé sous vide. Les cas recensés dans la littérature par ces auteurs étaient survenus en 5 foyers différents : 3 en Californie (en 1912, 1914, 1935), 2 à New York (1914, 1939). Ces cas avaient tous été déterminés par des fromages de préparation artisanale (« Cottage cheese », limburger, neufchatel). Ils avaient concerné 18 personnes dont 8 moururent.

Dans le cas observé par MEYER et EDDIE, de la toxine botulique B a été démontrée dans le fromage (20 DMM/ml) et on a estimé à 3.500 DMM la quantité de toxine ingérée par le malade. Une souche de *C. parbotulinum* B (type A ou B ?) a également été isolée en association avec d'autres bactéries (*Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, Staphylocoque) dans un « cottage cheese » ayant causé un botulisme mortel chez 3 personnes (6). Dans l'un des foyers cité par MEYER et EDDIE, l'origine tellurique de la contamination était évidente et il s'agissait de type A.

EN CONCLUSION

Outre son importance numérique et le fait que deux pays différents ont été affectés, la présente épidémie de botulisme humain :

1° montre l'intérêt, en cette matière, d'enquêtes épidémiologiques précises avec recherche de la toxémie sur les malades ;

2° amène à penser que le fromage peut être exceptionnellement un aliment botuligène ;

3° rappelle l'influence du pH d'une denrée sur le développement des spores de *Clostridium botulinum* et la formation de la toxine ;

4° attire l'attention sur le rôle des paillons en tant que sources possibles de contamination et sur le fait que leur utilisation en fromagerie devrait être étudiée et, si nécessaire, réglementée.

Remerciements

Nous remercions tous ceux qui nous ont communiqué des informations, en particulier le D^r J.-P. LORENT du Centre Anti-poisons de Zurich.

BIBLIOGRAPHIE

1. Botulism in the United States. Review of cases 1899-1969 and handbook for epidemiologists, clinicians and laboratory workers. 1 opuscule U. S. Department of Health, Education and Welfare, Public Health Service (Center for Disease Control, Atlanta), 1970.
2. GRECZ (N.), WAGENAAR (R. O.) et DACK (G. M.). — Storage stability of *Clostridium botulinum* toxin and spores in processed cheese. *Bact. Proc.*, 1965, 2.
3. GRECZ (N.), WAGENAAR (R. O.) et DACK (G. M.). — Storage stability of *Clostridium botulinum* toxin and spores in processed cheese. *Appl. Microbiol.*, 1965, 13, 1014-1022.
4. JACQUET (J.) et PRÉVOT (A. R.). — Le botulisme expérimental du cheval provoqué par la toxine D. Symptômes, pathogénie, diagnostic, lésions. *Bull. Acad. Vét.*, 1953, 26, 135-140.
5. JACQUET (J.). — Sur le botulisme équin et notamment le botulisme expérimental provoqué à l'aide de la toxine. *Bull. Off. Intern. Epizoot.*, 1954, 43, 473-481.
6. JOUGLARD (J.) et STRICK (L.). — Rapport présenté aux XIII^e Journées Françaises des Centres Anti-poisons, Marseille, 1^{er} et 2 octobre 1973. Epidémie de Botulisme à Marseille (juillet-août 1973). Rôle essentiel des Centres Anti-poisons dans le dépistage précoce des nuisances. 1 opuscule 1973, Centre Anti-poisons, Marseille.
7. MEYER (K. F.) et EDDIE (B.). — Perspective concerning botulism. *Zeitschr. f. Hyg.*, 1951, 133, 255-263.
8. NEVIN (M.). — Botulism from cheese. *J. Inf. Dis.*, 1921, 28, 226-231.

9. SEBALD (M.) et SAIMOT (G.). — Données actuelles fournies par le laboratoire dans le diagnostic du botulisme, in « Journées de Réanimation de l'Hôpital Claude Bernard ». 1 vol. Paris, 1972, Arnette, éd.
10. SEBALD (M.) et SAIMOT (G.). — Toxémie botulique. Intérêt de sa mise en évidence dans le diagnostic du botulisme humain de type B. *Ann. Microbiol.* (Institut Pasteur), 1973, 124 A, 61-69.
11. JOUGLARD (J.), SEBALD (M.) et GILLES (G.). — A botulism epidemic in Marseilles (July-August, 1973) an essential function of the Poisons Control Centers in the early diagnosis of nuisances (à paraître).
12. SEBALD (M.), JOUGLARD (J.) et GILLES (G.). — Botulisme humain de type B après ingestion de fromage. Epidémiologie et diagnostic par la mise en évidence d'une toxémie. *Ann. Microbiol.* (Institut Pasteur) (à paraître).

DISCUSSION

M. THIEULIN. — D'après ce que j'ai entendu, il paraît normal et très important de ne pas accuser d'emblée le fromage qui n'a été, en la circonstance, que l'un des vecteurs éventuel.

Je pense que dire ; intoxication botulique par des fromages, risque de créer un trouble grave chez le lecteur, car on aurait pu découper n'importe quoi sur les paillons et les acheteurs auraient pu ainsi emporter des spores. D'ailleurs, rien ne permet même de suspecter les paillons. J'estime donc que le titre de cette communication ne doit pas faire porter d'emblée une suspicion, nullement fondée, sur un aliment noble qui ne le mérite.

M. JACQUET. — Je ne suis pas l'auteur de cette communication, je me bornerai à faire observer qu'il n'est pas marqué par ingestion de fromage ou après ingestion de fromage. Vous avez parfaitement raison mais le fromage intervient cependant car si on avait découpé du pain qui est un produit sec, les conditions n'auraient pas été les mêmes.

M. L. NICOL. — Je suis absolument d'accord avec M. THIEULIN. Il y a des présomptions pour que cette épidémie de botulisme, confirmée par la clinique et la sérologie à la fois à Marseille et en Suisse, soit due à la consommation des fromages incriminés. Toutefois, il semble que ces présomptions portent plus sur les paillons qui ont supportés les fromages que sur les fromages eux-mêmes. Mais ce ne sont que des présomptions.

En effet, MACHEBŒUF a montré que le développement des germes lactiques au cours de la maturation des fromages entraîne une épuration de la flore microbienne antérieure. Sinon les cas de botulisme de cette origine seraient plus fréquents, compte tenu de l'importance de la consommation des fromages fermentés du même type que le Brie.

Il est plus logique de reporter les présomptions sur les paillons utilisés comme présentoirs dans les crémeries et de penser que les fromages eux-mêmes n'ont joué qu'un rôle de vecteurs entre les paillons contaminés et les consommateurs.

Cette hypothèse est plus plausible car elle peut alors être rapprochée d'une étiologie extrêmement courante dans le botulisme chez les herbivores, qui se contaminent en ingérant des fourrages : paille, foin, etc... souillés par des cadavres de chats, de rats, etc..., enfouis dans les meules, les balles ou entre les bottes entassées. Au cours de la lyse cadavérique, les liquides s'écoulent et souillent, d'une manière limitée d'ailleurs, les parties du fourrage qui ont été imbibées. Cette limitation peut expliquer les résultats négatifs obtenus dans la recherche du *clostridium botulinum* dans les échantillons de paillons du même lot, même si leur qualité était médiocre.

Il est probable que c'est de cette façon que s'est faite la contamination, par contact, du fromage sur les présentoirs, contamination relativement minime si l'on en juge par la bénignité des cas. Ceux-ci eussent certainement été plus graves si la culture botulique s'était faite dans la pâte même du fromage.

M. DRIEUX. — Dans cette observation, il y a un certain nombre de corrélations qui nous sont présentées comme évidentes et qui ne me paraissent pas l'être tellement.

Il faut en effet remarquer que l'on n'a trouvé ni dans le fromage — il n'y en avait plus d'ailleurs — ni dans les paillons de toxines ou de germes du botulisme. A-t-on le droit dès lors d'affirmer que le fromage ou même son paillon ont été cause du botulisme quand on sait les conséquences graves que peut comporter une telle affirmation tant au point de vue de la santé publique que de celui de la responsabilité civile et même de l'économie nationale qui n'est certes pas négligeable.

M. PANTALÉON. — M. DRIEUX a déjà dit, beaucoup mieux que je n'aurais pu le faire tout ce que l'on peut retenir sur cette question, aussi mon intervention sera très brève.

Je voudrais simplement préciser que les Services Vétérinaires du Ministère de l'Agriculture ont également participé à l'enquête.

A la suite des informations recueillies par le Centre Anti-Poisons de Marseille, la Direction des Services Vétérinaires du Département de la Meuse nous a adressé des échantillons concernant 20 lots de fromages de Brie préparés dans l'établissement suspecté : (10 lots précédant la journée de fabrication mise en cause, et 10 lots des journées qui ont suivi). Ces 20 lots ont fait l'objet de la recherche de la toxine directe, ainsi que de la toxine de culture : ces recherches se sont révélées négatives.

Les mêmes investigations menées sur des échantillons de paille et de jonc, de même provenance, apparemment de très bonne qualité, ont également donné des résultats négatifs.

Les seuls éléments positifs qui demeurent, comme le souligne le Rapport du Centre Anti-Poisons de Marseille, sont la constatation de botulisme humain d'une forme clinique peu grave, à symptomatologie essentiellement visuelle, confirmé par la présence de 9 cas de toxémie positive de type B.

On n'a pas pu trouver, dans aucun des éléments alimentaires mis en cause, la preuve d'une contamination spécifique.

Je voudrais ajouter que les cas de botulisme rapportés au fromage sont absolument exceptionnels. C'est ainsi qu'aux Etats-Unis, depuis le début du siècle, cette étiologie n'a été prouvée qu'une seule fois dans les 51 épidémies étudiées.

M. JACQUET. — Pour terminer, puisque j'ai présenté cette note, je vous propose de transmettre aux auteurs ces diverses observations.

Je voudrais également dire à propos des 5 cas, des 5 foyers américains rappelés tout à l'heure, que 3 d'entre eux avaient lieu en Californie et les deux autres à New York, mais il ne s'agissait pas de fromages à pâte molle, il s'agissait d'un Neufchâtel et d'un Limbourg. Il semble bien qu'il y ait eu une contamination accidentelle.

Le Gérant : C. BRESSOU

22493. — Imprimerie JOUVE, 17, rue du Louvre 75001 PARIS. — 7-1974

Dépot légal : 3^e trimestre 1974