

Clostridium perfringens

Agent de toxi-infection alimentaire

NATURE ET HABITAT

A – Principales caractéristiques microbiologiques

Bâtonnets larges (1 à 1.5 mm de diamètre), immobiles, extrémités carrées, sporulés, à Gram positif, et anaérobies strict mais aérotolérants. *C. perfringens* sporule rarement dans les milieux usuels de culture, uniquement dans des milieux spéciaux de sporulation.

Sur milieu gélosé contenant du sang de mouton, les colonies sont rondes, lisses, 3-5 mm de diamètre, et entourées de deux halos caractéristiques d'hémolyse : un premier halo d'hémolyse totale (toxine q ou perfringolysine) débordant peu la colonie et un second halo de grand diamètre d'hémolyse partielle (toxine a). Opalescence sur milieu avec du jaune d'oeuf due à l'activité phospholipase C de la toxine a.

Les cultures sont très gazogènes, et les sulfites sont réduits (colonies noires en présence de sulfite de sodium et d'alun de fer). *C. perfringens* est glucidolytique (acidification notamment du glucose, lactose, et maltose) et protéolytique.

C. perfringens produit et secrète de nombreuses toxines et enzymes hydrolytiques :

- o Toxine a (phospholipase C) principale responsable des lésions de myonécrose.
- o Toxine q (perfringolysine) hémolytique et nécrosante.
- o Entérotoxine, responsable de l'intoxication alimentaire. Contrairement aux autres toxines de *C. perfringens*, l'entérotoxine n'est synthétisée qu'au cours de la sporulation.
- o Toxine b1 responsable d'entérite nécrosante chez l'homme et l'animal.
- o Toxine b2 responsable d'entérite nécrosante chez l'animal, pouvoir pathogène chez l'homme non confirmé.
- o Toxine e responsable des entérotoxémies du bétail.
- o Toxine i responsable d'entérotoxémie chez certains animaux (veaux).

Selon les principales toxines produites, les souches de *C. perfringens* sont classiquement classées en 5 toxinotypes, mais le typage génétique montre une plus grande diversité des souches.

- o Type A: souches produisant toxine a, et parfois entérotoxine et/ou b2
- o Type B: souches produisant toxines a, b1, e
- o Type C: souches produisant toxines a, b1, et/ou b2
- o Type D: souches produisant toxines _a, e
- o Type E: souches produisant toxines a, i

L'entérotoxine peut être produite par des souches de type A, mais aussi par des souches des autres types. Environ 6-8% des souches de toute origine possèdent le gène de l'entérotoxine. Contrairement aux spores, l'entérotoxine est thermolabile. Elle est détruite en solution saline par un chauffage de 5 min à 60°C.

Caractéristiques de croissance

- Température: 10-50°C, optimum 40-45°C.
- Thermorésistance des spores : variable selon les souches et le milieu de suspension des spores. En pratique, une réduction décimale pour des températures de 90 à 100 °C et des temps de 1 à 60 min.
- aw: limite inférieure pour la croissance 0,97.
- pH optimum pour la croissance 6-7, extrême 5-8.
- NaCl croissance jusqu'à des concentrations inférieures ou égales à 2%, inhibition à 6,5% et plus.

Dans les conditions optimales, le temps de doublement est de 7 min.

B – Maladies animales, transmission à l'homme

C. perfringens cause de nombreuses maladies sévères chez les animaux notamment :

- entérotoxémies des ovins, bovins, et parfois autres espèces
- dysenterie de l'agneau
- entérite nécrotique des volailles

Il n'y a pas de transmission directe documentée entre l'animal malade et l'homme.

C – Réservoir

C. perfringens est une bactérie très ubiquitaire largement répandue dans tout l'environnement (sol, sédiments, eaux d'égout, lisiers, cadavres, poussières, surface des végétaux, etc.)

MALADIE HUMAINE

A – Formes symptomatiques et formes infectieuses asymptomatiques

- Intoxication alimentaire.

Les symptômes apparaissent entre 6 et 24 h, généralement 10-12 h, après l'ingestion du repas contaminé. Ils se traduisent surtout par de la diarrhée et de violents maux de ventre, parfois de nausées. Les vomissements et la fièvre ne sont pas habituels.

Le plus souvent, cette affection guérit spontanément en 2-3 jours. Toutefois, des mortalités ont été observées chez des personnes âgées et des jeunes enfants.

- entérite nécrotique :

Cette affection qui se traduit par de la diarrhée souvent hémorragique et une nécrose de la paroi intestinale, sévit dans des populations habituellement végétariennes qui consomment occasionnellement des préparations de viande contaminées par des souches de type C.

Il faut rappeler que *C. perfringens* est aussi un agent de gangrène sévère chez l'homme.

Par ailleurs, l'homme et les animaux sains peuvent être porteurs de *C. perfringens* dans leur tube digestif. Mais, le nombre de *C. perfringens* dans le contenu digestif est faible, $10 \text{ à } 10^3/\text{g}$.

B – Modalités de contamination

L'intoxication alimentaire à *C. perfringens* survient uniquement après consommation d'aliments lourdement contaminés par une souche entérotoxinogène de cette bactérie.

L'ingestion d'un grand nombre de *C. perfringens* permet son implantation dans l'intestin grêle. Une partie des bactéries ingérées est tuée au niveau de l'estomac (pH très acide, milieu riche en protéases) et la flore digestive résidente de l'intestin s'oppose à leur développement. Mais, ingéré en surnombre, *C. perfringens* se multiplie dans le contenu de l'intestin grêle ($10^8\text{-}10^9$ bact/g), sporule, synthétise l'entérotoxine, qui libérée après lyse de la paroi bactérienne, interagit avec les entérocytes provoquant une fuite d'eau et d'électrolytes.

De ce fait, *C. perfringens* est retrouvé en nombre élevé (supérieur à $10^6/\text{g}$) dans les selles des malades. L'entérotoxine est également présente dans les selles au cours de la phase symptomatique de la maladie.

C - Population exposée

L'intoxication alimentaire à *C. perfringens* atteint essentiellement les personnes prenant leur repas dans des restaurants collectifs, cantines scolaires, restaurants d'entreprise, etc..

D – Population à risque

Les personnes âgées prenant leurs repas à partir de cuisine collective (maisons de retraite, hôpitaux, service à domicile à partir d'une cuisine centrale) sont particulièrement à risque, car elles développent une forme généralement plus sévères de la maladie.

De même, les jeunes enfants sont particulièrement à risque et développent des formes plus sévères.

E – Relations dose-effet et dose réponse

Les aliments ou préparations culinaires responsables d'intoxication alimentaire contiennent au minimum 10^5 formes végétatives vivantes de *C. perfringens* entérotoxinogènes par gramme concentration à partir de laquelle il y a possibilité de multiplication dans l'intestin grêle de l'hôte, sporulation et production d'entérotoxine. L'expression du gène de l'entérotoxine est corégulée avec celle des gènes de la sporulation. Les aliments contaminés ne contiennent pas d'entérotoxine préformée, car *C. perfringens* ne sporule habituellement pas dans les préparations culinaires.

F – Diagnostic

Le diagnostic biologique de l'intoxication alimentaire à *C. perfringens* est basé sur la recherche de *C. perfringens* entérotoxinogène et/ou d'entérotoxine dans les selles des malades, ainsi que sur l'analyse des aliments en cause.

Le dénombrement et l'identification des *C. perfringens* à partir des selles sont réalisées sur gélose au sang de mouton ou contenant alun de fer et sulfite de sodium. L'identification des colonies repose sur la morphologie des bactéries, leur immobilité, la fermentation du lactose, la production de lécithinase et de gélatinase.

Pour mettre en évidence la production d'entérotoxine, il faut au préalable obtenir une culture sporulée.

L'entérotoxine peut être détectée par son effet cytopathique sur culture cellulaire, ou par test immunologique. La présence du gène de l'entérotoxine est aisément détectable par PCR.

L'entérotoxine de *C. perfringens* est présente dans les selles des malades dans des concentrations de 1 à 100 mg/ml, alors qu'elle n'est pas détectable chez les individus non symptomatiques. Des tests rapides d'identification de l'entérotoxine (ELISA, hémagglutination, agglutination de particules de latex) sont disponibles.

Les dénombremens sur milieu TSC sont généralement pratiqués. Une quantification et identification rapide peut être faite par PCR.

G – Traitement et prévention médicale

Le traitement est le plus souvent symptomatique. La réhydratation est préconisée dans les formes sévères de déshydratation.

L'antibiothérapie n'est pas recommandée, excepté dans les formes sévères.

C. perfringens est sensible à la plupart des antibiotiques, notamment beta-lactamines, mais pas aux aminosides.

ROLE DES ALIMENTS

A – Aliments impliqués

Ce sont les préparations à base de viande qui sont les plus fréquemment à l'origine d'intoxication alimentaire. Le plus souvent, il s'agit de préparations culinaires réalisées à l'avance et en grande quantité. L'aliment le plus typique consiste en des viandes en sauce, cuisinées en grand volume et à l'avance, qui n'ont pas été refroidies suffisamment vite entre le moment de leur préparation et celui où elles atteignent la température ambiante.

Les préparations à forte teneur en amidon, comme haricots, notamment haricots en sauce, sont également à risque.

B – Conditions conduisant à la contamination

Les matières premières sont faiblement contaminées, largement en dessous du seuil au dessus duquel il y a risque d'intoxication (10⁵/g). Les conditions de cuisson et de conservation ultérieure des préparations culinaires sont déterminantes sur l'évolution du niveau de contamination.

La cuisson détruit la plupart des formes végétatives, mais pas ou peu les spores. L'ébullition a aussi comme effet de permettre un dégazage de la préparation culinaire, donc de favoriser des conditions d'anaérobiose suffisante pour la croissance de *C. perfringens*. Les préparations en grand volume sont particulièrement propices à cet effet, car la ré-oxygénéation au contact de l'air ambiant est plus lente que dans les petits volumes.

Etant donné que *C. perfringens* se multiplie rapidement dans un milieu à base de viande ou d'amidon dans un intervalle de température entre 50 et 30°C, un maintien des préparations culinaires pendant plusieurs heures dans cette gamme de température rend possible une prolifération de cette bactérie au-delà du seuil critique de 10^5 /g.

C – Mesures de maîtrise dans le secteur alimentaire

La principale mesure concerne la maîtrise de la température de conservation des plats cuisinés dans l'intervalle +10 et +63°C. Les plats cuisinés à l'avance doivent être conservés soit à des températures supérieures à 63°C, soit inférieures à 10°C.

Le réchauffage des plats cuisinés à l'avance doit se faire à une température d'au moins 75°C. La contamination des matières premières comme les viandes n'excède généralement pas 10, à 10^2 UFC/g. Il est difficilement envisageable d'obtenir des produits exempts de *C. perfringens*.

L'essentiel des mesures préventives repose sur la maîtrise de leur prolifération dans les plats cuisinés.

D – Surveillance dans les aliments

Le dénombrement des *C. perfringens* dans les aliments sur milieu gélosé Tryptose-sulfitecyclosérine en anaérobiose et à 37°C est décrit dans la norme AFNOR V08-056 (1994). La surveillance microbiologique de *C. perfringens* en routine a un rôle limité dans la prévention des risques de toxi-infections alimentaires, car cet agent est très commun dans les aliments et une information sur sa présence n'a que peu de valeur, à moins qu'un dénombrement indique qu'il est présent en très grand nombre.

Hygiène domestique

- Respecter la chaîne du froid des aliments.
- Les plats cuisinés doivent être ramenés à température ambiante aussi vite que possible et consommés dans un bref délai (la journée) ou être bien conservés au froid (4°C), mais sur une courte période seulement (2-3 jours).