

**THESE  
POUR LE DIPLOME D'ETAT  
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenue publiquement le 27 Juin 2018  
Par Mlle Axelle Perrin**

---

**La Toxine Botulique : d'un agent infectieux mortel vers une  
utilisation pharmacologique**

---

**Membres du jury :**

**Président et Directeur, conseiller de thèse :** NEUT Christel, Maître de Conférences en Bactériologie-Virologie, Faculté de Pharmacie de Lille 2

**Assesseur :** BALDUYCK Malika, Maître de Conférences - Praticien Hospitalier, Laboratoire de biochimie, Faculté de Pharmacie de Lille2

**Membre extérieur :** GENSOLLEN Sophie, Docteur en Pharmacie, Marseille



## Faculté de Pharmacie de Lille



3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX

☎ 03.20.96.40.40 - 📠 : 03.20.96.43.64

<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

### Université de Lille

Président :	Jean-Christophe CAMART
Premier Vice-président :	Damien CUNY
Vice-présidente Formation :	Lynne FRANJIÉ
Vice-président Recherche :	Lionel MONTAGNE
Vice-président Relations Internationales :	François-Olivier SEYS
Directeur Général des Services :	Pierre-Marie ROBERT
Directrice Générale des Services Adjointe :	Marie-Dominique SAVINA

### Faculté de Pharmacie

Doyen :	Bertrand DÉCAUDIN
Vice-Doyen et Assesseur à la Recherche :	Patricia MELNYK
Assesseur aux Relations Internationales :	Philippe CHAVATTE
Assesseur à la Vie de la Faculté et aux Relations avec le Monde Professionnel :	Thomas MORGENROTH
Assesseur à la Pédagogie :	Benjamin BERTIN
Assesseur à la Scolarité :	Christophe BOCHU
Responsable des Services :	Cyrille PORTA

### Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Pharmacie Galénique
M.	DEPREUX	Patrick	ICPAL
M.	DINE	Thierry	Pharmacie clinique
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie
M.	LUYCKX	Michel	Pharmacie clinique
M.	ODOU	Pascal	Pharmacie Galénique
M.	STAELS	Bart	Biologie Cellulaire

## Liste des Professeurs des Universités

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	ALIOUAT	EI Moukhtar	Parasitologie
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Physique
M.	BERTHELOT	Pascal	Onco et Neurochimie
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie – Pharmacie clinique
M.	CHAVATTE	Philippe	ICPAL
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences végétales et fongiques
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Physique
M.	DEPREZ	Benoît	Lab. de Médicaments et Molécules
Mme	DEPREZ	Rebecca	Lab. de Médicaments et Molécules
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences végétales et fongiques
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie
M.	FOLIGNE	Benoît	Bactériologie
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie
Mme	GAYOT	Anne	Pharmacotechnie Industrielle
M.	GOOSSENS	Jean François	Chimie Analytique
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie Cellulaire
M.	LUC	Gerald	Physiologie
Mme	MELNYK	Patricia	Onco et Neurochimie
M.	MILLET	Régis	ICPAL
Mme	MUHR – TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PAUMELLE-LESTRELIN	Réjane	Biologie Cellulaire
Mme	PERROY	Anne Catherine	Législation
Mme	ROMOND	Marie Bénédicte	Bactériologie
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SERGHÉRAERT	Eric	Législation
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie Industrielle
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie Industrielle
M.	WILLAND	Nicolas	Lab. de Médicaments et Molécules

## Liste des Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BALDUYCK	Malika	Biochimie
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie
M.	LANNOY	Damien	Pharmacie Galénique
Mme	ODOU	Marie Françoise	Bactériologie
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacie Galénique

## Liste des Maîtres de Conférences

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	ALIOUAT	Cécile Marie	Parasitologie
M.	ANTHERIEU	Sébastien	Toxicologie
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie
Mme	BANTUBUNGI	Kadiombo	Biologie cellulaire
Mme	BARTHELEMY	Christine	Pharmacie Galénique

Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie
M	BELARBI	Karim	Pharmacologie
M.	BERTHET	Jérôme	Physique
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle
M.	BOCHU	Christophe	Physique
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie
M.	BOSC	Damien	Lab. de Médicaments et Molécules
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie
Mme	CARON	Sandrine	Biologie cellulaire
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie
Mme	CHARTON	Julie	Lab. de Médicaments et Molécules
M	CHEVALIER	Dany	Toxicologie
M.	COCHELARD	Dominique	Biomathématiques
Mme	DANEL	Cécile	Chimie Analytique
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire
Mme	DUTOUT-AGOURIDAS	Laurence	Onco et Neurochimie
M.	EL BAKALI	Jamal	Onco et Neurochimie
M.	FARCE	Amaury	ICPAL
Mme	FLIPO	Marion	Lab. de Médicaments et Molécules
Mme	FOULON	Catherine	Chimie Analytique
M.	FURMAN	Christophe	ICPAL
Mme	GENAY	Stéphanie	Pharmacie Galénique
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme	GOOSSENS	Laurence	ICPAL
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques
Mme	HAMOUDI	Chérifa Mounira	Pharmacotechnie industrielle
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie
M.	KAMBIA	Kpakpaga Nicolas	Pharmacologie
M.	KARROUT	Youness	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Onco et Neurochimie
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie Analytique
Mme	LEHMANN	Hélène	Législation
Mme	LELEU-CHAVAIN	Natascha	ICPAL
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie Analytique
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie
M.	MOREAU	Pierre Arthur	Sciences végétales et fongiques
M.	MORGENROTH	Thomas	Législation
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques
M.	PIVÁ	Frank	Biochimie
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie
M.	POURCET	Benoît	Biochimie
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques
Mme	RAVEZ	Séverine	Onco et Neurochimie

Mme	RIVIERE	Céline	Pharmacognosie
Mme	ROGER	Nadine	Immunologie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Lab. de Médicaments et Molécules
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques
M.	YOUS	Saïd	Onco et Neurochimie
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques

### Professeurs Certifiés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mlle	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

### Professeur Associé - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	DAO PHAN	Hai Pascal	Lab. Médicaments et Molécules
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie Pharmaceutique

### Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	BRICOTEAU	Didier	Biomathématiques
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacie Clinique
M.	GILLOT	François	Droit et Economie pharmaceutique
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacie Clinique
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques
M.	BRICOTEAU	Didier	Biomathématiques

### AHU

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie

## ***Faculté de Pharmacie de Lille***

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX  
Tel. : 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64  
<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

**L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.**

# Remerciements

Je tiens à remercier les membres de mon jury :

Madame Christel Neut, ma directrice et conseillère de thèse.  
Je vous exprime toute ma reconnaissance. Merci de m'avoir accompagnée depuis le choix de ce sujet jusqu'au jour de la soutenance. Merci pour vos remarques et conseils ainsi que votre disponibilité tout au long de la rédaction de cette thèse.

Madame Malika Balduyck,  
Je vous remercie sincèrement d'avoir accepté d'intégrer mon jury.

Madame Sophie Gensollen,  
Merci pour ta relecture et tes remarques ainsi que pour la correction de mes (quelques...) fautes d'orthographe. Je te remercie également pour ta présence au sein de mon jury.

Je remercie également toutes les personnes qui par leur soutien, leurs conseils et leurs relectures ont contribué à l'écriture de cette thèse.

# Table des matières

Remerciements .....	7
Liste des abréviations .....	11
Introduction .....	12
Partie 1 : <i>Clostridium botulinum</i> .....	13
I. <i>Clostridium botulinum</i> .....	13
A. La bactérie .....	13
1. Historique .....	13
2. Classification .....	13
3. Habitat .....	14
4. Propriétés .....	15
5. Croissance .....	16
B. La toxine .....	18
1. Structure .....	18
2. Mécanisme d'action .....	21
3. Toxicité .....	24
C. Identification d'un nouveau sérotype de toxine botulique .....	24
D. Les spores .....	25
1. Définition .....	25
2. Résistance des spores .....	26
3. Structure .....	27
4. Mécanisme de sporulation .....	28
5. La germination .....	29
II. Le Botulisme chez l'homme .....	30
A. Généralités .....	30
B. Le botulisme alimentaire .....	31
1. Symptômes cliniques .....	31
2. Diagnostic .....	33
3. Traitement .....	35
4. Toxines impliquées .....	37
5. Aliments mis en cause .....	38
6. Prévention .....	44
C. Le botulisme infantile .....	45
1. Symptômes .....	45
2. Facteurs de risques .....	46
3. Diagnostic .....	47
4. Traitement .....	47
5. Cas particulier : la toxi-infection .....	49
6. Prévention .....	50
D. Le botulisme par blessure (= botulisme des plaies) .....	51
1. Symptômes .....	51
2. Facteurs de risque .....	52
3. Diagnostic .....	53

4.	Traitement du botulisme par blessure : .....	54
5.	Prévention : .....	55
III.	Le botulisme chez les animaux.....	57
A.	Le botulisme aviaire.....	57
1.	Les oiseaux sauvages aquatiques .....	57
2.	Elevage avicole .....	63
3.	Risque de transmission à l'homme .....	66
B.	Le botulisme chez les bovins.....	67
1.	Symptômes cliniques .....	67
2.	Toxines responsables .....	70
3.	Sources de contamination.....	70
4.	Prévention .....	71
C.	Le botulisme chez les chevaux.....	72
1.	Symptômes cliniques .....	72
2.	Toxines responsables .....	72
3.	Sources de contamination.....	72
4.	Diagnostic .....	73
5.	Traitement.....	73
6.	Prévention.....	73
D.	Cas de portage asymptomatique chez d'autres espèces animales.....	74
	Partie 2 : Utilisation de la toxine botulique.....	75
I.	Arme biologique .....	75
A.	Définition .....	75
B.	Le plan Biotox.....	76
C.	Mode de contamination .....	76
1.	Par inhalation .....	77
2.	Par ingestion .....	77
D.	Historique de l'utilisation de la toxine botulique comme arme biologique. ...	78
II.	Utilisation thérapeutique .....	80
A.	Historique .....	80
B.	Produits présents sur le marché français .....	82
C.	Mécanisme d'action.....	84
D.	Indications .....	84
1.	Troubles de l'oculomotricité / strabisme (à partir de 12 ans).....	85
2.	Blépharospasme (à partir de 12 ans) .....	85
3.	Spasmes hémifaciaux (à partir de 12 ans).....	86
4.	Hyperhidrose axillaire (à partir de 12 ans).....	86
5.	Dystonie cervicale (à partir de 12 ans).....	88
6.	Spasticité des membres inférieurs et/ou supérieurs (à partir de 2 ans)....	89
7.	Dysfonctions vésicales chez l'adulte .....	89
E.	Effets indésirables .....	91
1.	Communs à toutes les indications.....	91
2.	Effets indésirables par indications.....	92
3.	Formation d'anticorps.....	93

F.	Interactions médicamenteuses et contre-indications .....	94
III.	Utilisation cosmétique .....	96
A.	Historique .....	96
B.	Indications .....	96
C.	Mécanisme d'action .....	97
D.	Posologies.....	97
1.	Rides glabellaires .....	98
2.	Rides canthales latérales .....	98
3.	Rides horizontales du front.....	99
E.	Efficacité du traitement.....	100
F.	Effets indésirables .....	100
1.	Effets indésirables principaux.....	100
2.	Effets indésirables sur le long terme .....	101
3.	Risques d'effets indésirables systémiques.....	101
4.	Développement d'anticorps antitoxine botulique .....	102
G.	Perspectives d'utilisation .....	105
H.	Botulisme iatrogène.....	106
1.	Premier cas de botulisme iatrogène confirmé aux USA .....	106
2.	Autres exemples de botulisme iatrogène .....	107
	Conclusion.....	109
	Bibliographie.....	110

# Liste des abréviations

Afssa : Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Nouvellement ANSES)

ANSM : Agence Nationale de Sécurité des Médicaments

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

ANSES : Agence Nationale Sécurité Sanitaire Alimentaire Nationale

ARS : Agence Régionale de Santé

ATU : Autorisation Temporaire d'Utilisation

AVC : Accident Vasculaire Cérébral

BEH : Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire

CDC : Centers for Disease Control and Prevention

CNR des bactéries anaérobies et du botulisme : Centre National de Recherche des Bactéries Anaérobies et Botulisme

DLS : Dose Léthale Souris

DL<sub>50</sub> : Dose Léthale 50

ECDC : European Center for Disease Prevention and Control

FDA : Food and Drug Administration

HDSS : Hyperhidrosis Disease Severity Scale

IgG : Immunoglobuline G

InVS : Institut de Veille Sanitaire

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique

MRC : Maladies Réputées Contagieuses

PCR : Réaction en Chaîne par Polymérase

RNOEA : Réseau National d'Observations Epidémiologiques en Aviculture

TWSTRS : Toronto Western Spasmodic Torticollis Rating Score

VAS : Echelle Visuelle Analogue

# Introduction

La toxine botulique est considérée comme le poison le plus toxique au monde à ce jour. Sa dose létale est extrêmement faible. L'ingestion de 70 microgrammes de toxine botulique peut entraîner la mort d'un adulte d'environ 70 kg.

Produite par une bactérie appelée *Clostridium botulinum*, la toxine botulique provoque une paralysie du système nerveux qui engendre une paralysie flasque et progressive des muscles. La maladie, désignée sous le nom de botulisme, a été décrite pour la première fois par un médecin allemand, le Docteur Kerner, au début du XIX<sup>ème</sup> siècle à la suite de nombreuses intoxications alimentaires dues à la consommation de saucisses dans l'Empire allemand.

C'est une maladie potentiellement mortelle qui fait l'objet d'une déclaration obligatoire auprès des autorités de santé. Elle est principalement connue à travers la consommation de conserves maison. Cependant, cela reste une maladie rare et en France, une vingtaine de cas sont déclarés chaque année.

Du fait de son extrême létalité, l'utilisation de la toxine botulique comme arme biologique suscite un intérêt particulier. Les premières traces de son développement remontent aux années 1930 notamment au Japon.

Cependant, Paracelse, médecin suisse du XVI<sup>ème</sup> siècle, disait alors « Tout est poison et rien n'est sans poison; la dose seule fait que quelque chose n'est pas un poison ».

La citation de Paracelse illustre pleinement la dualité entre l'utilisation d'un poison mortel comme traitement puisque la toxine botulique constitue le premier exemple d'utilisation d'une toxine bactériologique comme médicament.

Peu de personnes savent qu'elle se cache derrière le principe actif du Botox® connu de tous pour la correction des rides.

Après quelques rappels sur la bactérie et sa toxine, nous nous intéresserons au botulisme non seulement chez l'homme mais également chez les animaux. Pour finir, nous évoquerons la toxine dans son utilisation en tant qu'arme biologique, et développerons ces différentes indications aussi bien en thérapeutique qu'en cosmétique.

# Partie 1 : *Clostridium botulinum*

## I. *Clostridium botulinum*

### A. La bactérie

#### 1. Historique

Au début du XVIII<sup>ème</sup> siècle, une augmentation du nombre d'intoxications alimentaires après consommation de saucisses est constatée dans l'Empire Allemand.

Mais c'est en 1817 que le docteur allemand Justinus Kerner rapporte pour la première fois dans une publication le cas d'une intoxication alimentaire létale due à la consommation d'une saucisse avariée.

Par la suite, il publie deux monographies dans lesquelles il décrit précisément les symptômes neuromusculaires rencontrés ainsi que les résultats de ses expériences menées sur des animaux. La maladie est alors connue sous le nom de la « maladie de Kerner ».

En 1869, la maladie de Kerner est renommée sous le nom de botulisme par un autre médecin allemand (Müller). Son origine provient du latin « botulus » qui signifie boudin, saucisson.

La bactérie est identifiée et cultivée pour la première fois en 1897 par Emile Pierre van Ermengem à la suite d'une large épidémie de botulisme en Belgique causée par la consommation de jambon contaminé.

La bactérie est alors nommée « bacillus botulinus ».

En 1923, la bactérie est reclassée dans le genre *Clostridium* et renommée *Clostridium botulinum* (1,3).

#### 2. Classification

*Clostridium botulinum* est une bactérie de type :

- bacille
- GRAM +
- anaérobie stricte
- sporulée.

Sa classification est la suivante :

- règne : *Bactérie*
- division : *Firmicutes*
- classe : *Clostridia*



Figure 1 : *C.botulinum* type A (2)

- ordre : *Clostridiales*
- famille : *Clostridiaceae*
- genre : *Clostridium*.

*Clostridium botulinum* est capable de produire une toxine appelée neurotoxine botulique responsable des symptômes cliniques du botulisme.

Il existe 7 sérotypes de toxines différents communément établis et désignés par une lettre allant de A à G.

Un nouveau sérotype de toxine botulique a été identifié récemment, il s'agit du sérotype X (8,10).

Cependant, l'espèce de *Clostridium botulinum* est très hétérogène, ainsi elle est divisée en 4 groupes génétiquement distincts :

- groupe I : *Clostridium botulinum* protéolytique (comprenant le sérotype A, B et F)
- groupe II : *Clostridium botulinum* non-protéolytique (comprenant le sérotype E, B et F)
- groupe III : *Clostridium botulinum* comprenant le sérotype C et D
- groupe IV : *Clostridium botulinum* comprenant le sérotype G parfois reconnu comme une espèce à part nommée *Clostridium argentinense* (3,7).

Deux autres espèces de *Clostridium* sont capables de produire une neurotoxique botulique, il s'agit de :

- *Clostridium baratii* produisant la toxine du sérotype F
- *Clostridium butyricum* produisant la toxine du sérotype E (3,7).

Organism	Botulism type	Human disease
<i>Clostridium botulinum</i>	A, B, C, D, E, F	only A, B, E
<i>Clostridium butyricum</i>	E	Yes
<i>Clostridium baratii</i>	F	Yes
<i>Clostridium argentinense</i>	G	Yes

Figure 2 : Correspondance entre espèces et sérotypes produits (3)

Les groupes de *Clostridium botulinum* I et II sont responsables de la majorité des cas de botulisme chez l'homme.

### 3. Habitat

*Clostridium botulinum* est une bactérie ubiquitaire, rencontrée dans l'environnement, en particulier dans les sols, la poussière et les sédiments marins ou d'eaux douces ; les sérotypes A et B étant plus fréquemment retrouvés dans les sols tandis que le sérotype E est plutôt rencontré dans les sédiments marins (3).

De plus, la bactérie est présente partout à travers le monde. La présence des différents sérotypes de *Clostridium botulinum* est documentée pour tous les continents mais sa répartition géographique est différente en fonction des sérotypes.

Par exemple, aux Etats-Unis, *Clostridium botulinum* de type A est dominant à l'ouest du Mississippi alors que *Clostridium botulinum* de type B est dominant à l'est de ce fleuve.

Le sérotype E est, quant à lui, plus fréquent dans la région des Grands Lacs et sur la côte nord de l'océan Pacifique.

En Asie, des traces des sérotypes A à F ont été détectés dans les sols de Chine et la présence de B, C et E est documentée au Japon. Les sérotypes A, B, C D et F ont également été détectés dans les eaux indonésiennes tandis que les sérotypes C et D ont été détectés dans des poissons de mers bordant l'Inde.

En Amérique du Sud, le sérotype A semble dominant. A l'inverse, en Europe, il semblerait que ce soit le sérotype B qui prédomine.

Sur le continent africain, *Clostridium botulinum* de type A à D a été détecté dans les sols de Zambie et du Kenya.

En Australie, des épidémies dues aux sérotypes A, B et D sont également documentées.

De plus, *Clostridium botulinum* de type E possède la particularité d'être capable de se développer à de basses températures (2-3°C), de ce fait, ce sérotype se rencontre préférentiellement dans les régions proches du cercle polaire (Alaska, Nord du Canada, Scandinavie, Russie) et au Japon.

Par ailleurs, *Clostridium botulinum* peut également coloniser le tube digestif de certains animaux comme les poissons, les oiseaux ou encore certains mammifères et cela de façon occasionnelle et asymptomatique ce qui constitue une autre forme de réservoirs pour la bactérie (3, 6).

#### 4. Propriétés

En fonction de leur groupe d'appartenance et de leurs caractéristiques génétiques et phénotypiques, les bactéries possèdent des propriétés différentes ainsi qu'une résistance différente aux éléments environnementaux et chimiques.

##### a) Groupe I : protéolytique

*Clostridium botulinum* du groupe I est une bactérie mésophile c'est-à-dire qu'elle prospère dans des conditions de températures modérées.

Par ailleurs, les bactéries appartenant au groupe I ont une action protéolytique qui leur permet de couper les protéines en acides gras à chaînes courtes.

Cette propriété peut éventuellement donner une odeur ou à un goût amer aux aliments contaminés (3,7).

### b) Groupe II : non-protéolytique

Les bactéries du groupe II ne possèdent pas d'action protéolytique mais ont une action saccharolytique vis-à-vis de certains sucres (3,7).

Les bactéries du groupe II dont dites psychrophiles, elles peuvent se développer à plus basses températures.

Neurotoxigenic clostridia	Proteolytic <i>C. botulinum</i> ( <i>C. botulinum</i> Group I)	Non-proteolytic <i>C. botulinum</i> ( <i>C. botulinum</i> Group II)
Neurotoxins formed	A, B, F <sup>a</sup>	B, E, F
Non-neurotoxigenic equivalent clostridia	<i>C. sporogenes</i>	no species name given
Ferment glucose	+ <sup>b</sup>	+
Ferment fructose	+/-	+
Ferment maltose	+/-	+
Ferment mannose	-	+
Ferment sucrose	-	+
Lipase production	+	+
Motility	+	+
Minimum growth temperature	10–12 °C	2.5–3.0 °C
Optimum growth temperature	37 °C	25 °C
Minimum pH for growth	4.6	5.0
NaCl concentration preventing growth	10%	5%
Minimum water activity for growth, humectant: NaCl/glycerol	0.94/0.93	0.97/0.94
Spore heat resistance <sup>c</sup>	D <sub>121°C</sub> = 0.21 min	D <sub>82.2°C</sub> = 2.4/231 min <sup>d</sup>
Spore radiation resistance	D = 2.0–4.5 kGy	D = 1.0–2.0 kGy

<sup>a</sup> in dual-toxin strains, more than one toxin is formed.

<sup>b</sup> + all strains positive, +/- some strains are positive with others negative, - all strains negative.

<sup>c</sup> Spore heat resistance determined in phosphate buffer, pH 7.0.

<sup>d</sup> D-value without/with lysozyme during recovery.

Figure 3 : Caractéristiques principales de *Clostridium botulinum* protéolytique et non-protéolytique (7)

## 5. Croissance

Les agents du botulisme ne peuvent se développer et produire la toxine que dans des conditions bien particulières.

En effet, un certain nombre de facteurs sont nécessaires :

- les nutriments : acides aminés, facteurs de croissance, sels minéraux. La bactérie se développe bien dans les milieux riches en matières organiques.
- la température : la température de croissance idéale varie en fonction du type de bactérie.

C. BOTULINUM GROUP						
	I	II	III	IV*	<i>C. baritii</i>	<i>C. butyricum</i>
Toxin type	A, B, F	B, E, F	C, D	G	F	E
Growth temperature (°C)						
Optimum	35-40	18-25	40	37	30-37	30-45
Minimum	12	3,3	15			10

Figure 4 : Température de croissance optimale en fonction du sérotype (11)

- le pH : sa valeur optimale est de 7. La limite inférieure est de 4,5 à 4,8 et la limite supérieure est de 8 à 9.
- l'activité de l'eau<sup>1</sup>, la limite inférieure étant de 0,95
- des conditions anaérobies
- le potentiel d'oxydo-réduction : il doit être d'environ -350mV (15).

	<i>C. botulinum</i> Groupe I Protéolytiques			<i>C. botulinum</i> Groupe II Non protéolytiques			<i>C. botulinum</i> Groupe III Non protéolytiques			<i>C. botulinum</i> Groupe IV Protéolytique		
Toxines	A, B, F			B, E, F			C, D			G		
Sous-types de toxines	A1, A2, A3, A4, A5, B1, B2, B3, bivalent B (Ba, Bf, Ab), proteolytic F			E1, E2, E3, E6, non proteolytic B, F			C, D, C/D, D/C			G		
Bactéries apparentées non toxigènes	<i>C. sporogenes</i>			Pas de nom d'espèces			<i>C. novyi</i>			<i>C. subterminale</i>		
<b>Croissance cellules végétatives</b>	Min.	Opt.	Max.	Min.	Opt.	Max.	Min.	Opt.	Max.	Min.	Opt.	Max.
Température (°C)	10	35-40	48	3	18-25	45	15	37-40		/	37	/
pH	4,6	/	9,0	5,0	7,0	9,0	5,1	6,1-6,3	9,0	4,6	7,0	/
a <sub>w</sub>	0,94	/		0,97	/	/	0,97	/		0,94	/	/
% NaCl inhibant la croissance	10			5								
<b>Production toxines</b>												
Température min (°C)	10			3			15			/		
a <sub>w</sub> min	0,94			0,97			0,97			0,94		
<b>Stabilité et inactivation des toxines</b>	Les toxines résistent à la congélation (activité de la toxine préformée dans l'aliment non réduite par la congélation). Détruites après 10 min à 100 °C ou 30 min à 80 °C.											

Figure 5 : Caractéristiques de survie, de croissance et de toxinogénèse des *C.botulinum* (2)

La croissance de *Clostridium botulinum* peut être inhibée par différents agents tels que :

- les nitrites
- l'acide ascorbique
- les antioxydants phénoliques
- les polyphosphates
- les ascorbates (15).

<sup>1</sup> L'activité de l'eau est l'un des principaux paramètres influençant la conservation des aliments ou des produits pharmaceutiques. Les micro-organismes ont besoin d'eau « libre » (libre pour les réactions biochimiques) pour se développer. L'activité de l'eau ne représente pas la teneur en eau (ou humidité) mais bien la disponibilité de cette eau. Plus l'activité de l'eau est élevée, plus la quantité d'eau libre est grande (1 étant le maximum) et plus les micro-organismes se développeront

## B. La toxine

Les différents sérotypes de toxines botuliques se distinguent par leurs propriétés immunologiques. En effet, chaque sérotype est neutralisé par des antitoxines spécifiques.

Par exemple, la toxine de type F produite par *Clostridium botulinum* et la toxine de type F produite par *Clostridium baratii* sont neutralisées par des antitoxines différentes (2).

Cependant, tous les sérotypes ont une structure identique.

### 1. Structure

#### a) La neurotoxine botulique

La neurotoxine botulique est synthétisée par la bactérie sous la forme d'un précurseur composé d'une seule chaîne protéique d'environ 150 KDa.

Ce précurseur est ensuite clivé en 2 parties par des protéases pour donner :

- une chaîne légère de 50 KDa (LC)
- une chaîne lourde de 100 KDa (HC)

reliées par un pont disulfure appelé la ceinture.

Ces protéases sont d'origine intrinsèque pour le groupe protéolytique de *Clostridium botulinum*. En revanche, elles doivent être apportées par le milieu extérieur pour les bactéries appartenant au groupe non-protéolytique.

La chaîne légère LC constitue le domaine catalytique de la neurotoxine botulique et a une fonction d'endopeptidase dépendante du zinc qui cible et inactive des protéines intervenant dans la libération des vésicules d'exocytose des neurotransmetteurs, les protéines SNARE.

La chaîne lourde HC est divisée en deux domaines :

- le domaine de liaison H<sub>C</sub> situé au niveau de la partie C-terminale de la protéine
- le domaine de translocation H<sub>N</sub> situé au niveau de la partie N-terminale de la protéine (4,5).

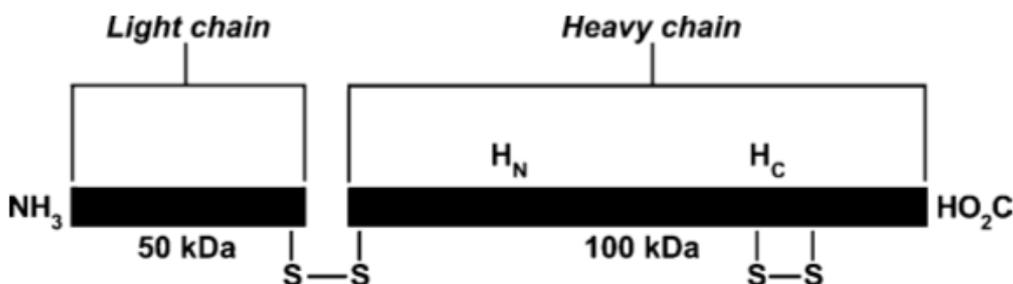


Figure 6 : Structure de la neurotoxine botulique (14)

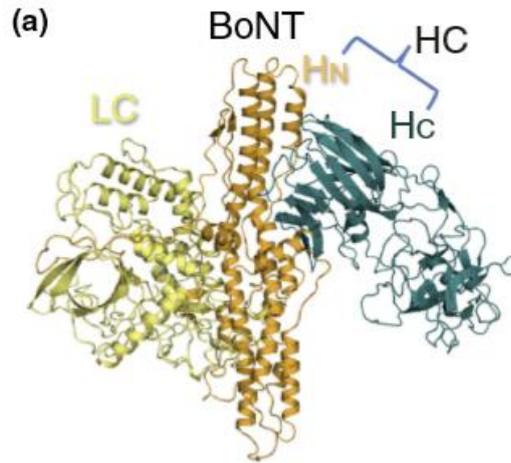


Figure 7 : Neurotoxine botulique (4)

## b) Les Protéines Associées Non toxiques

La toxine botulique est produite avec d'autres protéines associées non toxiques, les NAPs, pour former un complexe protéique appelé Progeniteur Toxin Complexe (PTC).

Ces protéines NAPs sont de 3 types :

- les protéines Non toxique Non Heamagglutinine (NTNHA) qui s'associent avec la toxine botulique pour former le complexe m-PTC retrouvés parmi tous les sérotypes de toxine.
- les protéines Heamagglutinine (HA) qui s'associent avec la toxine botulique et les NTNHA pour former le complexe L-PTC retrouvées pour les sérotypes A, B, C, D et G.
- des protéines codées par un gène orf-X et dont la fonction reste inconnue retrouvées pour les sérotypes A2 et F (4).

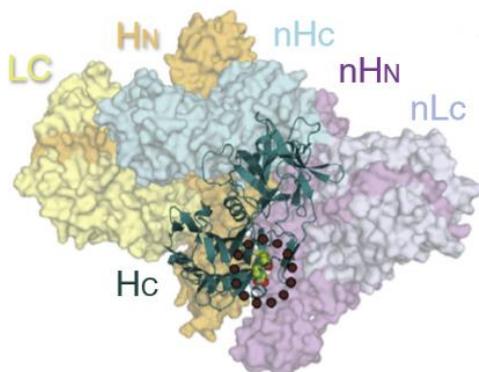


Figure 8 : Structure du complexe M-PTC (4)

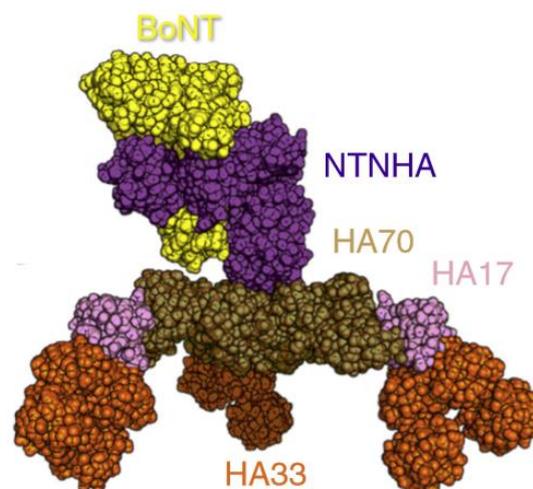


Figure 9 : Structure du complexe L-PTC (4)

### c) Rôle du m-PTC

Le complexe m-PTC a un rôle dans la protection de la toxine botulique contre les protéines et l'acidité du tube digestif qui pourraient entraîner sa dégradation lors d'une absorption par voie orale.

Une fois dans la lumière intestinale, la toxine botulique est dissociée des protéines NTNHA grâce à des interactions pH-dépendantes.

En effet, pendant l'absorption de la toxine de l'intestin vers la circulation sanguine, le pH au départ acide devient progressivement neutre. Les protéines NTNHA sont capables de sentir cette variation et d'ajuster leur configuration pour dans un premier temps assurer la protection de la toxine et dans un deuxième temps permettre sa libération dans la circulation sanguine (4).

### d) Rôle du L-PTC

Dans le complexe L-PTC, plusieurs protéines HA s'associent entre elles pour former un complexe HA organisé en 3 bras.

Ce complexe aurait un rôle dans le passage de la toxine botulique à travers la barrière épithéliale vers la circulation sanguine.

En effet, il aurait un rôle dans l'ancrage de L-PTC à la surface des microvillosités intestinales via le mucus grâce à des liaisons glucidiques.

De plus, le complexe HA permettrait la désorganisation des jonctions entre les cellules épithéliales formant la barrière intestinale. En effet, les cellules épithéliales qui forment l'épithélium intestinal sont organisées et reliées entre elles grâce, entre autres, à des protéines d'adhésions, les E cadhérines. En se liant aux E cadhérines, le complexe HA provoque une ouverture entre ces cellules et permet le passage des toxines botuliques par voie paracellulaire (4).

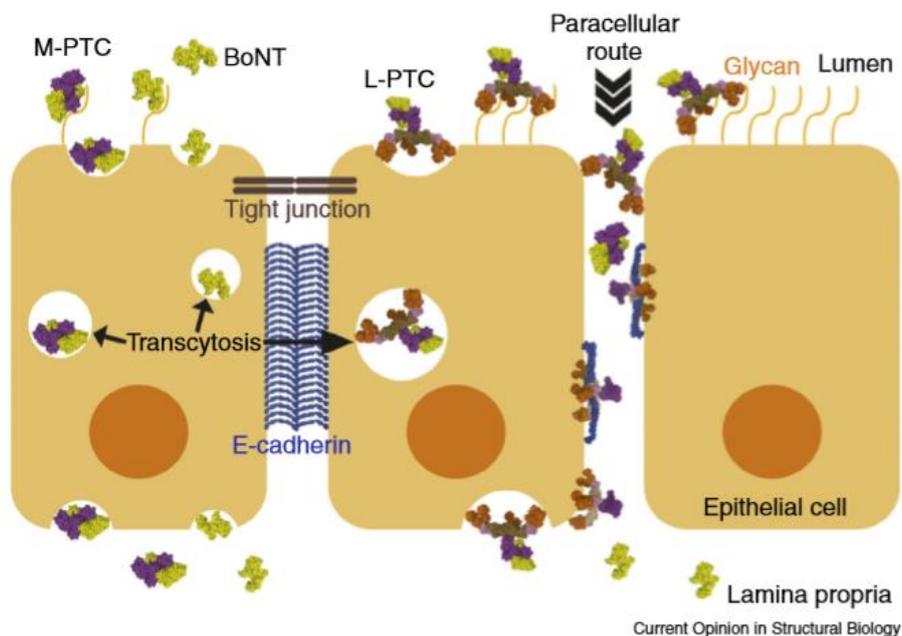


Figure 10 : Mécanismes d'absorption de la neurotoxine botulique (4)

Une seconde voie de passage de la toxine botulique est envisagée. En effet, celle-ci pourrait passer la barrière intestinale par transcytose à travers les cellules épithéliales sous la forme du complexe m-PTC ou L-PTC.

Une fois dans la cellule, les complexes pourraient également perturber l'adhésion des cellules entre elles et ouvrir une voie de passage paracellulaire pour les autres molécules de toxines.

Par ailleurs, l'hypothèse a été émise que les complexes HA pourraient jouer un rôle dans le tropisme et les différences de toxicité des différents sérotypes de toxine botulique.

En effet, pour les sérotypes C et D, les complexes HA ne se lient pas aux E-cadhérines, leur rôle reste à être élucidé.

De plus, les interactions glucidiques entre les complexes HA et les mucus sont spécifiques pour chaque sérotype.

Ces différences pourraient participer notamment à la spécificité d'hôtes de chaque sérotype de toxine botulique (4).

### **e) Toxines mosaïques**

Il existe des toxines appelées mosaïques C/D ou D/C.

Elles résultent d'un mélange de deux toxines.

La mosaïque C/D est composée de la chaîne légère du sérotype C et de la chaîne lourde du sérotype D.

A l'inverse, la mosaïque D/C est composée par la chaîne légère du sérotype D et de la chaîne lourde du sérotype C (48).

## **2. Mécanisme d'action**

C'est la toxine botulique qui provoque les symptômes du botulisme en agissant sur le système nerveux.

Après une contamination par la neurotoxine botulique, celle-ci passe dans la circulation sanguine pour être transportée vers les neurones de la jonction neuromusculaire et provoquer l'inhibition de la transmission cholinergique au niveau de la fente synaptique.

Le mécanisme d'action se déroule en 4 étapes principales :

- liaison de la neurotoxine à des récepteurs situés à la surface de la membrane neuronale
- internalisation de la toxine par endocytose dans le cytosol du neurone
- translocation à travers la membrane de l'endosome et libération dans le cytosol du neurone
- activité protéolytique : dégradation protéolytique des protéines cibles (5).

### **a) Liaison**

La toxine botulique se fixe sur des récepteurs présents à la surface des neurones grâce à son domaine de liaison situé au niveau de la partie C-terminale de sa chaîne lourde (HC).

Ces récepteurs sont composés de :

- gangliosides
- protéines vésiculaires synaptiques exposées de façon transitoire à la cellule

Chaque sérotype de toxine possède un récepteur spécifique différent :

- les sérotypes A, E et F ciblent SV2
- les sérotypes B et G ciblent la Synaptotagmine I et II
- le sérotype C et D (pas bien identifié)

La toxine botulique se fixe à ses récepteurs avec une affinité et une spécificité très importante (5).

### **b) Internalisation**

Après s'être fixée à la surface de la membrane neuronale, la toxine est internalisée dans une vésicule par un processus d'endocytose dans le compartiment intracellulaire du neurone (5).

### **c) Translocation**

Une acidification du milieu par action d'ATPase entraîne un changement de configuration et une insertion de la chaîne lourde (HC) de la toxine dans la bicouche lipidique de la vésicule.

Cette chaîne lourde forme alors un canal ionique à travers lequel passe la chaîne légère (LC).

Cette dernière est ensuite libérée dans le cytosol du neurone après réduction du pont disulfure qui maintenait les deux chaînes ensemble (5).

### **d) Action protéolytique**

Les neurotoxines botuliques sont des protéases dont le site actif, composé d'une métalloprotéase dépendante du zinc, est situé au niveau de la chaîne légère de la toxine (LC).

Leurs substrats sont les protéines SNARES (Soluble N-ethylmaleinamid-sensitive Factor Attachment Protein Receptor) qui forment le complexe pré-synaptique de fusion<sup>22</sup> et qui participent à l'exocytose des neuromédiateurs dans la fente synaptique en permettant la fusion des vésicules de neuromédiateurs avec la membrane pré-synaptique des neurones.

Il existe trois types de protéines SNARES :

- VAMP (vesicle associated membrane proteine) ou Synaptobrévine
- SNAP25
- Syntaxine

Chaque type de toxine cible une protéine SNARE différente (34)..

Toxine	Protéine SNARE ciblée
A	SNAP 25
B	Synaptobrévine/VAMP
C	SNAP 25 ou Syntaxine
D	Synaptobrévine/VAMP
E	SNAP 25
F	Synaptobrévine/VAMP
G	Synaptobrévine/VAMP

Figure 11 : Protéines SNARE ciblées en fonction des différents sérotypes de toxine (34)

Ainsi, la toxine botulique est responsable du clivage d'une protéine SNARE et empêche la libération d'acétylcholine dans la fente pré-synaptique. La transmission neuromusculaire est donc inhibée ce qui provoque une paralysie (5).

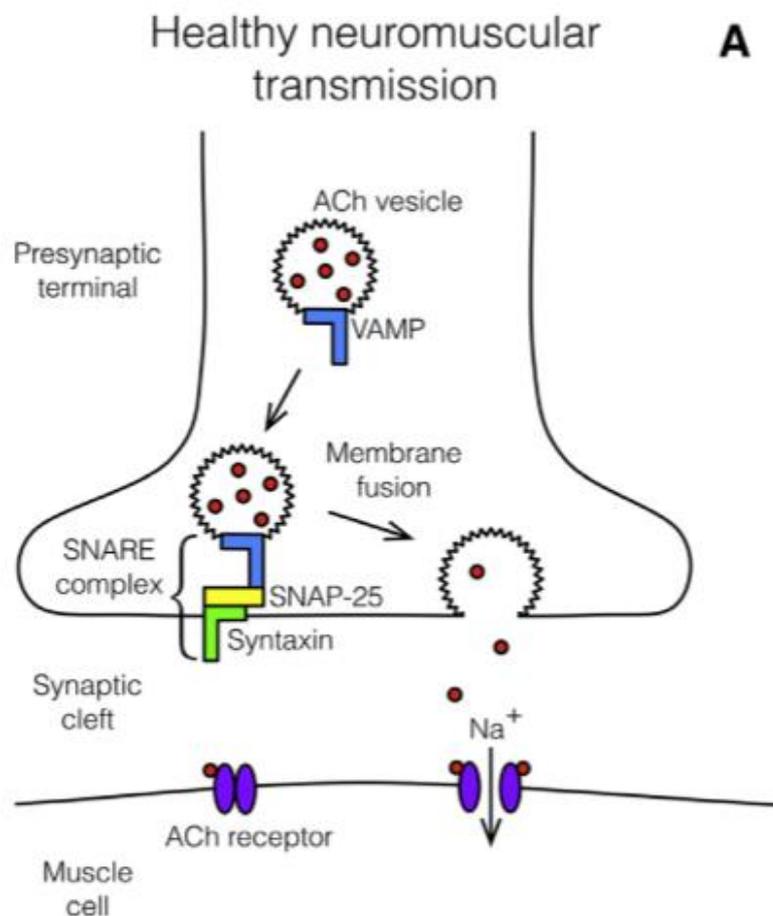


Figure 12 : Mécanisme de la transmission cholinergique au niveau de la jonction neuromusculaire en l'absence de toxine botulique (35)

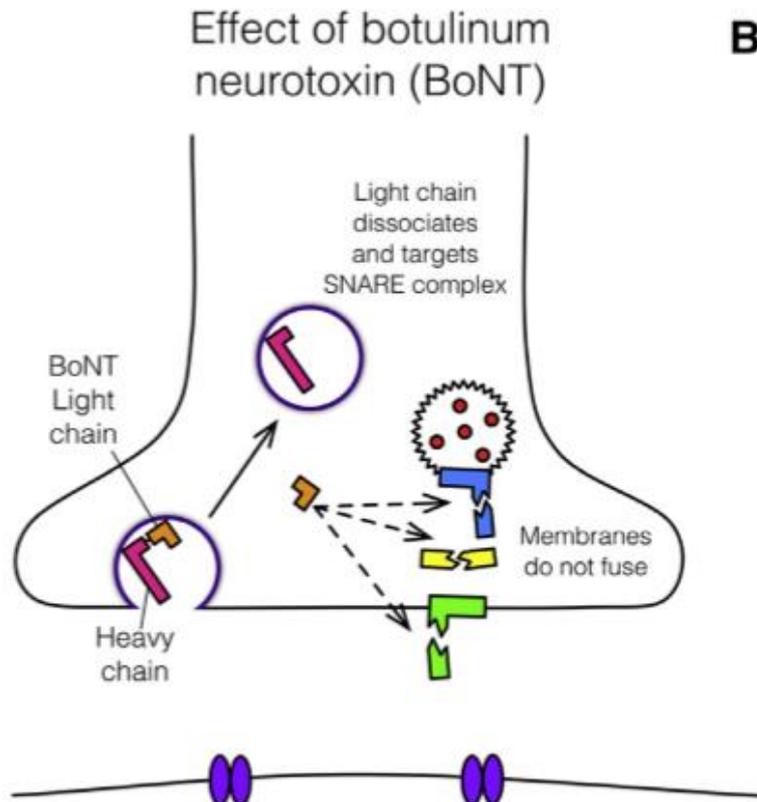


Figure 13 : Mécanisme d'action de la toxine botulique sur la transmission cholinergique au niveau de la jonction neuromusculaire (35)

### 3. Toxicité

La toxine botulique est souvent définie comme étant le poison le plus puissant connu au monde. En effet, sa dose létale est extrêmement faible.

Elle peut être estimée chez un homme adulte d'environ 70 kg en fonction des différentes voies de contamination :

- par voie parentérale : entre 0,09 µg et 0,15 µg.
- par voie orale : environ 70 µg soit environ 1 µg/kg.
- par inhalation : entre 0,8 et 0,9 µg.

Par ailleurs, les neurotoxines botuliques sont moins résistantes aux conditions extérieures que les spores.

Par exemple, à l'inverse des spores, les neurotoxines botuliques sont thermolabiles. Elles seront détruites par un chauffage à 85°C pendant 5 minutes (2,16).

### C. Identification d'un nouveau sérotype de toxine botulique

En 2017, il a été découvert qu'une espèce appartenant au genre *Enterococcus* possédait un ensemble de gènes codant pour une neurotoxine similaire aux neurotoxines botuliques et ses protéines associées.

Le produit de ces gènes donnerait une toxine possédant la même structure que les neurotoxines botuliques :

- un site actif de type métalloprotéase situé sur la chaîne légère
- un domaine de translocation situé sur la partie N terminale de la chaîne lourde
- un domaine de liaison situé sur la partie C terminale de la chaîne lourde

Une analyse de la séquence en acides aminés de la protéine a montré une analogie importante avec la séquence des autres neurotoxines botuliques. Cependant, une petite variation au niveau du domaine de liaison C-terminale de la chaîne lourde suggère un possible mécanisme de liaison à sa cible (VAMP 2 et SNAP 25) légèrement différent. Ceci pourrait être une nouvelle piste potentielle d'utilisation en thérapeutique.

Les gènes codants pour la toxine seraient situés sur un plasmide conjugatif et auraient été obtenus par transfert horizontal à partir d'une source encore inconnue.

L'espèce d'*Enterococcus* a été isolée dans les selles de vaches en Caroline du Nord aux Etats-Unis.

A la suite d'analyses comparatives du génome de plusieurs espèces d'*Enterococcus*, la bactérie présenterait de fortes similitudes avec *Enterococcus faecium*. Cette bactérie est commensale du tube digestif de l'homme et de certains animaux. Elle est aussi responsable d'infections des voies urinaires, du sang, et de plaies chirurgicales multirésistantes aux antibiotiques dans les hôpitaux.

C'est la première fois qu'un gène codant pour une neurotoxine botulique a été identifiée chez une bactérie n'appartenant pas au genre *Clostridium*.

Cependant, il n'a pas été étudié si l'expression du gène était possible en pratique ou si les vaches dont la bactérie a été isolée ont eu des symptômes cliniques de botulisme.

Toutefois, la découverte d'un gène de neurotoxine botulique chez une espèce commensale reste préoccupante (8,9,10).

## D. Les spores

### 1. Définition

Les spores sont des formes de dormance et de résistance de la bactérie qui lui permettent de survivre dans des conditions inhospitalières sur une période de temps prolongée.

En effet, les spores sont capables de résister à un stress physique ou chimique qui détruirait la forme végétative de la bactérie comme par exemple :

- une température inadaptée
- la présence de solvants
- des éléments nutritifs en trop faible quantité ou totalement absents
- une forte pression

- des agents oxydants
- des radiations

Ainsi, les spores permettent à *Clostridium botulinum* de survivre dans l'environnement. Elles peuvent également être une forme de contamination des organismes vivants.

## 2. Résistance des spores

La résistance des spores de *Clostridium* est supérieure à celle de la toxine botulique.

Ainsi, les spores de *Clostridium botulinum* du groupe I sont particulièrement thermorésistantes. Leur D-value à 121°C (temps nécessaire pour tuer 90% des bactéries exposées) a été évaluée à 0,21 minutes.

La résistance des spores de *Clostridium botulinum* du groupe II à la température est un peu moindre. Leur D-value à 82,2°C a été évaluée à 2,4 minutes.

De plus, elles sont particulièrement résistantes aux fortes pressions. Elles peuvent toutefois être détruites en associant un traitement thermique avec un traitement à hautes pressions.

Cependant, les spores restent sensibles à certains produits chimiques comme le peroxyde d'hydrogène, l'oxyde d'éthylène; les plus efficaces étant les composés chlorés (2,7).

Désinfectants	Hautes pressions												
<p>Les spores sont sensibles à la majorité des désinfectants autorisés en IAA, sous réserve de suivre les modalités d'utilisation recommandées.</p> <p>Les composés chlorés sont les agents chimiques les plus actifs.</p> <p>Les spores de <i>C. botulinum</i> A, B et E sont inactivées à des concentrations de 4,5 ppm (m/v) de chlore libre (pH 6,5).</p>	<p>Les spores de <i>C. botulinum</i> sont très résistantes à la pression.</p> <p>Les spores peuvent être inactivées par la combinaison d'un traitement thermique et d'un traitement par hautes pressions.</p>												
	Ionisation												
	<p>Valeur de <math>D_{10}^{(3)}</math> pour les spores (traitements sur aliments congelés):</p> <p><math>D_{10} (T^{\circ}C \leq -18) = 2 - 4,5</math> kGy (Groupe I)</p> <p><math>D_{10} (T^{\circ}C \leq -18) = 1,0 - 2,0</math> kGy (Groupe II)</p>												
Effets de la température													
<p>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.</p> <p>Les souches protéolytiques du groupe I possèdent les spores les plus thermorésistantes, les souches non protéolytiques du groupe II sont les plus thermosensibles.</p>													
<p><b>Tableau 3. Valeurs de <math>D^{(4)}</math> et <math>Z^{(5)}</math> pour les spores de <i>C. botulinum</i></b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th><i>C. botulinum</i> Groupe I</th> <th><i>C. botulinum</i> Groupe II</th> <th><i>C. botulinum</i> Groupe III</th> <th><i>C. botulinum</i> Groupe IV</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><math>D_{121,1^{\circ}C} = 0,21</math> min</td> <td><math>D_{80^{\circ}C} = 0,6-1,25</math> min*</td> <td><math>D_{104^{\circ}C} = 0,1-0,9</math> min*</td> <td><math>D_{104^{\circ}C} = 0,8-1,12</math> min*</td> </tr> <tr> <td colspan="4" style="text-align: center;"><math>Z = 10^{\circ}C</math></td> </tr> </tbody> </table> <p>* Variable selon les souches. Les spores sont résistantes à la congélation.</p>		<i>C. botulinum</i> Groupe I	<i>C. botulinum</i> Groupe II	<i>C. botulinum</i> Groupe III	<i>C. botulinum</i> Groupe IV	$D_{121,1^{\circ}C} = 0,21$ min	$D_{80^{\circ}C} = 0,6-1,25$ min*	$D_{104^{\circ}C} = 0,1-0,9$ min*	$D_{104^{\circ}C} = 0,8-1,12$ min*	$Z = 10^{\circ}C$			
<i>C. botulinum</i> Groupe I	<i>C. botulinum</i> Groupe II	<i>C. botulinum</i> Groupe III	<i>C. botulinum</i> Groupe IV										
$D_{121,1^{\circ}C} = 0,21$ min	$D_{80^{\circ}C} = 0,6-1,25$ min*	$D_{104^{\circ}C} = 0,1-0,9$ min*	$D_{104^{\circ}C} = 0,8-1,12$ min*										
$Z = 10^{\circ}C$													

- (3)  $D_{10}$  est la dose (en kGy) nécessaire pour réduire une population à 10% de son effectif initial.
- (4) D est le temps nécessaire pour diviser par 10 la population du danger microbiologique initialement présente.
- (5) Z est la variation de température ( $^{\circ}C$ ) correspondant à une variation d'un facteur 10 du temps de réduction décimale.
- (6) F0: durée en minutes d'un traitement thermique appliqué à cœur du produit à la température de référence de 121,1  $^{\circ}C$ .

Figure 14 : Résistance des spores de *C.botulinum* en fonction de différents paramètres (2)

### 3. Structure

La spore est constituée de plusieurs couches qui protègent l'ADN bactérien.

L'ADN bactérien est regroupé avec des enzymes à l'intérieur de la spore dans un compartiment central, le noyau, entouré par une bicouche lipidique qui forme la membrane interne. Elle offre une protection au noyau et à l'ADN bactérien par rapport aux dommages potentiels causés par des agents extérieurs.

Cette membrane est ensuite recouverte par une couche de peptidoglycane appelée paroi cellulaire.

La paroi cellulaire est ensuite enveloppée dans une nouvelle couche de peptidoglycane modifié appelé cortex. Cette dernière structure est essentielle et permet la thermorésistance de la spore.

Le cortex est entouré par un manteau multiprotéique qui fournit une résistance à certaines enzymes et qui permet une interaction de la spore avec l'environnement (12).

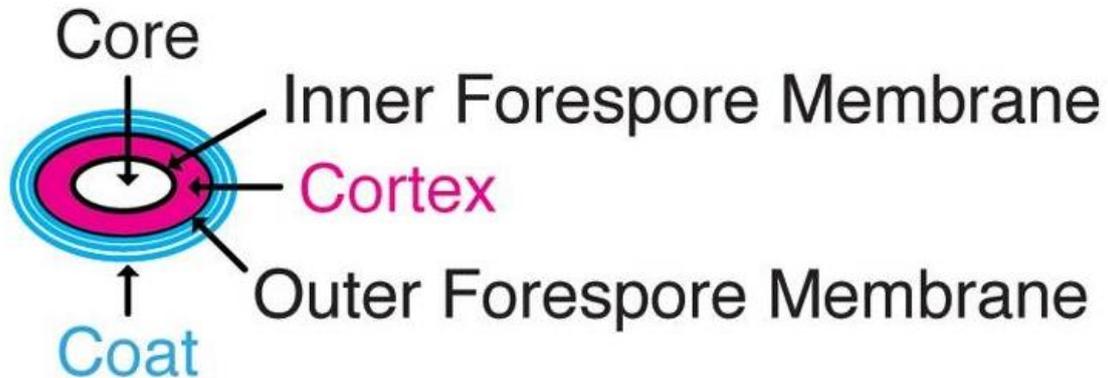


Figure 15 : Structure d'une spore de *Clostridium botulinum* (17)

#### 4. Mécanisme de sporulation

La sporulation est donc définie comme la capacité de certaines bactéries de donner à partir d'une forme végétative une forme métaboliquement dormante. Ce processus se déroule en 7 étapes :

- stades 1 et 2 : division asymétrique de la cellule pour former 2 compartiments de tailles inégales, le plus grand étant celui de la cellule mère et le plus petit celui de la pré-spore. L'ADN bactérien est déposé dans la pré-spore.
- stade 3 : la pré-spore est engloutie par la cellule mère et possède alors une membrane externe et une membrane interne.
- stade 4 : la paroi cellulaire constituée de peptidoglycane et le cortex sont synthétisés dans l'espace entre la membrane externe et la membrane interne entourant la pré-spore.
- stade 5 : formation d'une structure complexe de protéines à la surface externe de la spore appelée manteau.
- stade 6 : la résistance des spores aux UV et aux radiations est établie.
- stade 7 : libération de la spore mature de la cellule mère dans l'environnement (13).

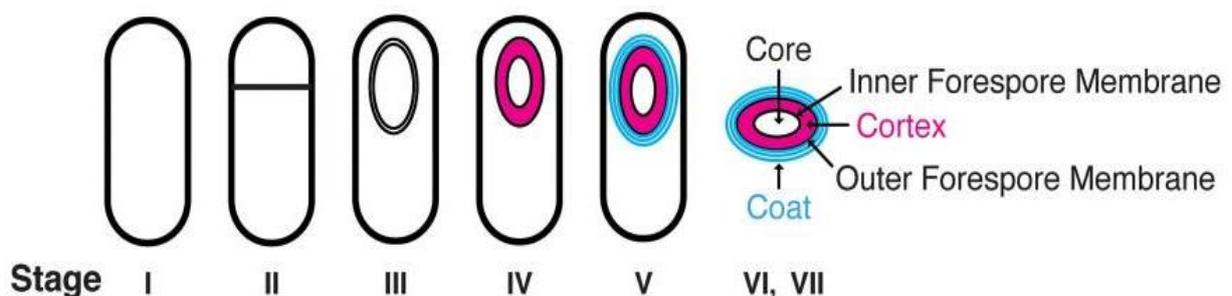


Figure 16 : Différentes étapes de sporulation (17)

## 5. La germination

La germination constitue le mécanisme inverse de la sporulation et correspond au passage de la spore à la forme végétative.

La germination des spores est dictée par des conditions environnementales suffisantes comme la présence de nutriments et un stimulus physique.

Les germinants (par exemple des acides aminés essentiels comme le L-alanine) vont pénétrer la membrane de la spore et activer des récepteurs de la germination. Cela va entraîner une réaction irréversible impliquant des enzymes présentes dans la spore en dormance et qui provoque la reprise de la croissance de la bactérie, la production de la toxine peut démarrer (3).

## II. Le Botulisme chez l'homme

### A. Généralités

En France, le botulisme est inscrit sur la liste des maladies à déclaration obligatoire depuis 1986. Elle est classée dans les deux catégories de maladies à déclaration obligatoire c'est-à-dire qu'elle nécessite à la fois une intervention urgente locale, nationale ou internationale et sa surveillance est nécessaire à la conduite et à l'évaluation de la politique de santé publique (18).

Ainsi, toute suspicion clinique de botulisme doit donner lieu le plus rapidement possible à un signalement à l'Agence Régionale de Santé concernée par le médecin et ce, sans attendre la confirmation des examens biologiques. Une investigation est alors menée par l'ARS, en collaboration avec les services de la Direction Départementale de la Protection des Populations et l'InVS afin de déterminer l'origine de la contamination ainsi que les mesures nécessaires à mettre en place (19).

En Europe, la France est le deuxième pays le plus touché par le botulisme après l'Italie (20).

En France, son incidence sur la période de 1991 à 2016 est de 0,38 par millions d'habitants par an. Le nombre médian de cas par an est de 23 (28).

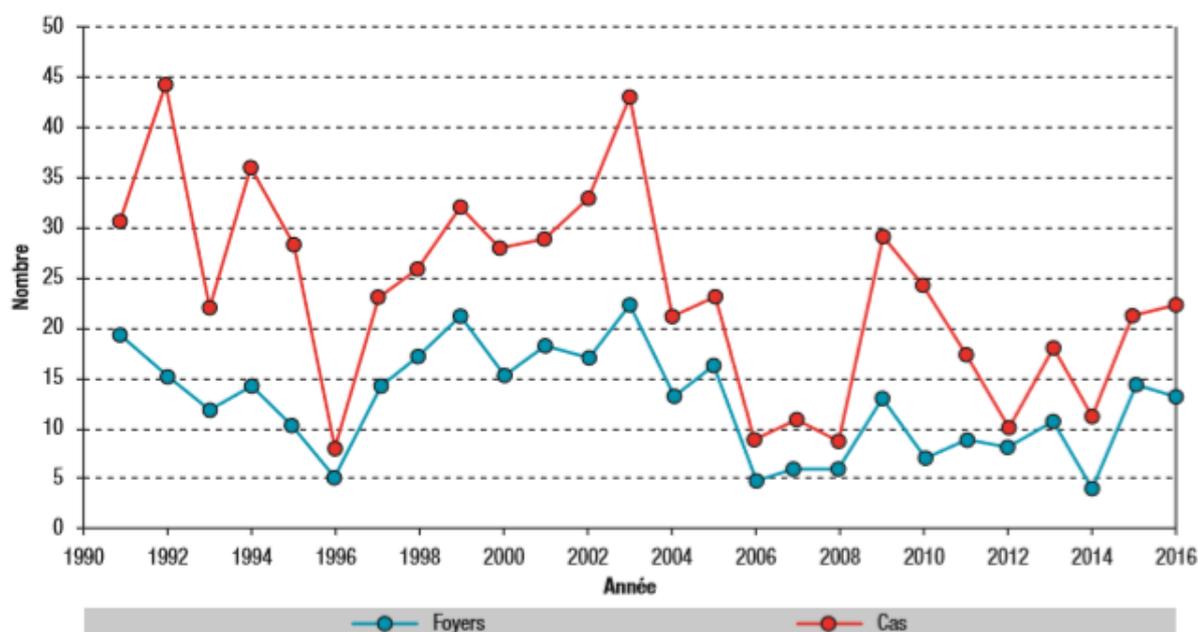


Figure 17 : Nombre de cas et de foyers de botulisme humain en France par an, 1991-2016 (28)

L'homme est sensible aux toxines A, B, E et F. La gravité de la maladie dépend du type de toxine et de la quantité de toxine ou de bactéries/spores impliquée, la toxine A étant généralement responsable d'une forme plus grave avec des symptômes d'installation plus rapide et plus sévères.

Il existe différentes formes de contamination par *Clostridium botulinum* chez l'Homme. De façon générale, 3 grands types distincts de botulisme sont décrits dans la littérature :

- le botulisme alimentaire
- le botulisme infantile
- le botulisme par blessure

D'autres formes de contamination ont été décrites mais de façon plus anecdotique à savoir par inoculation, inhalation et iatrogène.

## B. Le botulisme alimentaire

Le botulisme alimentaire est provoqué par l'ingestion d'un aliment dans lequel la toxine botulique est déjà formée. Quelques grammes d'aliment suffisent à déclencher la maladie.

En France, c'est la forme la plus commune. Sur les 67 foyers de botulisme déclarés entre 2010 et 2016, 52 étaient d'origine alimentaire (24,25,26,27,28).

### 1. Symptômes cliniques

Cette forme de botulisme débute généralement par des symptômes gastro-intestinaux :

- nausées
- vomissements
- diarrhée ou constipation

Ils apparaissent généralement quelques heures après l'ingestion de nourriture contaminée. Le temps d'incubation est variable entre 1 à 8 jours.

Par la suite, la maladie progresse vers une paralysie bilatérale des nerfs crâniens et une paralysie flasque descendante et symétrique des muscles autonomes et volontaires (3).

Les premiers muscles touchés sont les muscles oculomoteurs ce qui provoque des troubles de la vue comme :

- une vision floue
- une diplopie (vision double)
- une mydriase (pupilles dilatées)

Une paralysie des muscles buccaux et faciaux peut également apparaître. Cette paralysie est responsable de :

- xérostomie (sécheresse buccale)
- trouble de la mastication
- dysphagie (difficulté à déglutir)
- dysphonie (enrouement)
- dysarthrie (difficulté à articuler)
- relâchement des muscles du visage, faiblesse du cou (3).

CN III	Cannot move eyes left and right, lids droop
CN IV	Cannot look downward symmetrically
CN V	Cannot bite down
CN VI	Cannot look outward
CN VII	Cannot close eyes against force, purse lips, or smile
CN IX	Stylopharyngeus muscle only
CN X	Diminished gag reflex and difficulty swallowing, saying "Ah"
CN XI	Diminished strength trapezius and sternocleidomastoid
CN XII	Difficulty moving tongue side to side

Figure 18 : Correspondance entre paralysie des nerfs crâniens (CN) et symptômes cliniques observés (3)

Dans les cas les plus graves, la paralysie peut toucher les muscles des membres (extrémités proximales puis distales) puis les muscles respiratoires intercostaux et le diaphragme ce qui provoque une détresse respiratoire et peut entraîner le décès par insuffisance respiratoire (3).

Clinical sign/symptom	Number of cases	% of cases
Headache	28	6.6
Double vision	298	70.6
Drooping upper eyelid	43	10.2
Dilation of the pupil	88	20.9
Difficulty in swallowing	304	72.0
Dry mouth	278	65.9
Facial palsy	28	6.6
Respiratory failure	75	17.8
Constipation	209	49.5
Nausea	145	34.4
Vomiting	157	37.2
Abdominal pain	6	1.4
Diarrhoea	40	9.5
Urinary retention	20	4.7
Coma	9	2.1
Death	17	4.0

Figure 19 : Tableau récapitulatif des signes cliniques observés par 421 patients atteints de botulisme alimentaire, Italie, 1985-2015 (20)

Les photos ci-dessous montrent des patients atteints de botulisme et présentant des symptômes caractéristiques tels qu'un ptosis bilatéral, une dilatation des pupilles et un visage inexpressif dû à la paralysie faciale.

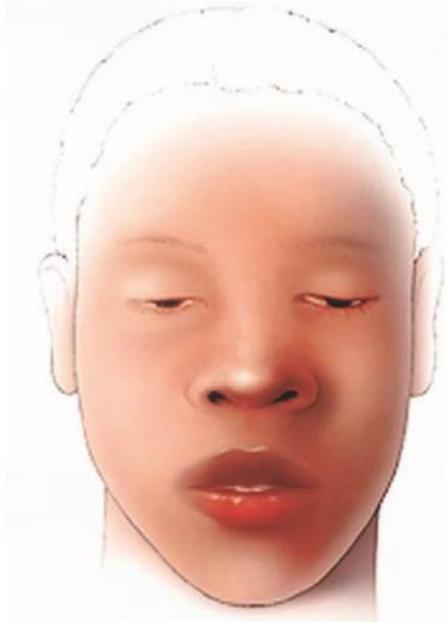


Figure 20 : Illustration d'un patient atteint de botulisme présentant un ptosis et une paralysie faciale avec un visage inexpressif. (16)

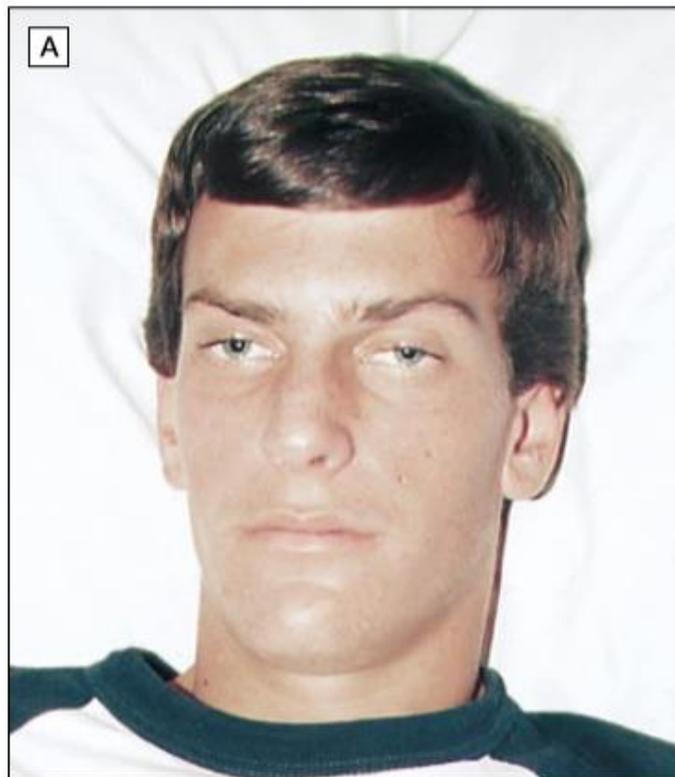


Figure 21 : Patient atteint de botulisme (58)

## 2. Diagnostic

Le botulisme est une maladie difficile à diagnostiquer. Ce dernier repose sur la clinique et est confirmé par des tests biologiques.

Dans le cas du botulisme alimentaire, ces tests sont réalisés sur des échantillons de sérum, sécrétions gastriques, selles et nourriture suspectée. Ils doivent être prélevés

idéalement avant tout traitement. Ils vont servir à détecter la toxine et/ou la bactérie responsable.

Tous ces tests doivent être réalisés dans des laboratoires de sécurité microbiologique de type 2 qui possèdent des équipements adéquats ainsi qu'un personnel entraîné à traiter ce type de bactérie (3,29).

En France, ils ne peuvent être réalisés que par l'Institut Pasteur de Paris au niveau de Centre National de Recherche des Bactéries anaérobies et du Botulisme (37).

### **a) Détection de la toxine**

Le test de référence utilisé pour mettre en évidence la toxine est le test de létalité sur les souris.

Il consiste à injecter les échantillons prélevés puis dilués à des souris de laboratoire au niveau intrapéritonéal. Si l'échantillon contient la toxine, les souris vont développer les symptômes du botulisme tels qu'une faiblesse des muscles et une détresse respiratoire. Les symptômes apparaissent généralement une journée après l'injection mais cela peut prendre parfois plus de temps.

Ensuite, le type de toxine est déterminé par une méthode de neutralisation de la toxine. Pour cela, des antitoxines spécifiques à un type de toxine ont été administrées aux souris. Si l'antitoxine correspond à la toxine de l'échantillon, les souris ne développent pas de botulisme.

Les résultats sont obtenus sous 1 à 4 jours. Cette méthode possède une très bonne spécificité et une très bonne sensibilité.

La toxine peut également être détectée et typée par des méthodes immunologiques tel que le test ELISA. La toxine contenue dans l'échantillon se lie à des anticorps primaires antitoxine qui sont fixés sur une matrice. Un deuxième anticorps est utilisé et se lie également à la toxine. Puis une molécule couplée à une enzyme ciblant le complexe anticorps antitoxine/toxine est utilisé pour produire une réaction enzymatique mettant en évidence la présence de la toxine.

Cependant, cette méthode possède une moins bonne sensibilité et spécificité mais elle a pour avantage d'être plus rapide (1 à 2 jours) (3,29,37).

### **b) Détection de la bactérie**

La mise en évidence de la bactérie se fait par mise en culture des échantillons dans un milieu d'enrichissement en anaérobiose. En cas de croissance, la présence de bactéries de type *Clostridium* est suspectée.

L'ADN est extrait et analysé par PCR en ciblant les gènes qui codent pour les toxines botuliques.

Cette technique permet la détection du gène de la toxine mais ne met pas en évidence l'activité du gène ou la toxine. Elle permet d'identifier la souche de *Clostridium* recherchée. Elle permet de confirmer l'appartenance à l'espèce *Clostridium botulinum* (29).

### **c) Diagnostic différentiel**

Le diagnostic différentiel du botulisme est souvent difficile à réaliser. Une confusion avec d'autres maladies peut être à l'origine d'erreur de diagnostic et entraîner un retard dans l'administration du traitement. Ainsi, le botulisme peut être confondu avec des pathologies aux origines variées telles que métaboliques, génétiques, neuromusculaires ou infectieuses. Par exemple :

- Troubles métaboliques : maladie des mitochondries, maladie du sirop d'érable, acidurie glutanique de type 1
- Atrophie musculaire spinale de type 1
- Infections par entérovirus (encéphalite), bronchiolite par SVR (virus respiratoire syncytial)
- Syndrome de Miller Fisher (variation du syndrome Guillain-Barré)
- Myasthénie grave

La plupart des examens sanguins ou autres biologiques ne présentent pas d'anomalies. De plus, la maladie résulte de l'action d'une toxine, ce n'est pas une infection, il n'y a donc pas de fièvre ni de leucocytose (3).

Dans le cas où une ponction lombaire est réalisée, celle-ci sera normale tout comme l'IRM ou l'électroencéphalogramme.

Cependant, des tests de conduction nerveuse et un électromyogramme servant à montrer une atteinte de la jonction neuromusculaire peuvent être utiles pour confirmer ou exclure d'autres diagnostics.

Par ailleurs, du fait de son poids moléculaire important, la toxine botulique ne peut pas passer la barrière hémato-encéphalique, il n'y a pas donc pas d'atteinte du système nerveux sensoriel. Ainsi, le tableau clinique ne comprend pas d'altération de la conscience ni de tremblements (3).

## **3. Traitement**

Le botulisme nécessite souvent une hospitalisation. Sur les 72 personnes atteintes de botulisme en France entre 2013 et 2016, 55 ont dû être hospitalisées. Le traitement combine un traitement spécifique par antitoxines botuliques avec un traitement symptomatique (25,26,27,28).

### **a) Traitement par antitoxine**

Le but du traitement par antitoxine est de stopper la progression de la toxine botulique en la « piégeant » avant qu'elle ne se fixe sur les terminaisons nerveuses. En effet, les antitoxines neutralisent uniquement la toxine circulante et n'ont aucune action une fois que la toxine est liée à sa cible. De cette façon, son administration doit être la plus rapide possible et ce dès les premiers soupçons de botulisme afin d'empêcher au maximum cette liaison (3).

Lors d'une étude menée sur 134 cas de botulisme de type A, il a été démontré que la mortalité était de 10% lorsqu'un traitement par antitoxine était administré dans les 24 heures suivant les premiers symptômes, elle passait à 15% lorsque son administration était plus tardive et à 46% en l'absence du traitement.

Ainsi, et au vu du temps de réalisation des tests diagnostiques, la mise en place du traitement est basée uniquement sur la clinique (31).

Plusieurs formulations existent en fonction du nombre de type de toxines ciblées (A, B, C, D, E, F, G) :

- les antitoxines monovalentes : contre les toxines A ou B ou E
- l'antitoxine équine bivalente : contre les toxines A et B
- l'antitoxine équine trivalente : contre les toxines A, B et E. Elle contient 7500 UI de type A, 5500 UI de type B et 8500 de type E
- l'antitoxine heptavalente : contre tous les types toxines (A, B, C, D, E, F et G).

Depuis 2010, le traitement par antitoxine heptavalente H-BAT<sup>®</sup> est celui préconisé aux USA. La production des autres types d'antitoxines est arrêtée bien qu'il existe encore des réserves (3).

---

7,500 IU anti-A  
5,500 IU anti-B  
5,000 IU anti-C  
1,000 IU anti-D  
8,500 IU anti-E  
5,000 IU anti-F  
1,000 IU anti-G

---

Figure 22 : Composition de H-BAT<sup>®</sup> (3)

La dose recommandée est d'une ampoule de 20 mL diluée au 10<sup>ème</sup> dans une solution saline administrée par voie intraveineuse sur 60 minutes pour H-BAT<sup>®</sup> et d'une ampoule de 10 mL diluée au 10<sup>ème</sup> dans une solution saline sur 30 à 60 minutes pour les antitoxines bi et trivalente.

Les antitoxines sont des dérivées d'immunoglobulines équine de type IgG. Dans le cas du traitement heptavalent, les immunoglobulines d'origines équine ont subi des traitements particuliers qui ont permis de diminuer leur immunogénicité. Ainsi, le produit contient moins de 2% d'IgG équine intacte, le fragment antigénique Fc étant retiré par réaction enzymatique (3,31).

Le risque de réaction allergique due aux protéines équine est l'effet indésirable le plus rencontré suite à l'administration des antitoxines. Dans une étude menée aux USA entre 1967 et 1977 sur 268 patients ayant reçu l'antitoxine bi ou trivalente, 9% ont développé des réactions allergiques de type anaphylaxie, maladie sérique ou urticaire.

Cependant ce risque est moindre avec l'utilisation de H-BAT<sup>®</sup>. Un skin test permettrait de diagnostiquer ces éventuelles réactions. Cependant, sa réalisation décalerait l'administration du traitement et diminuerait les chances de son bon

fonctionnement. Ainsi, les recommandations officielles préconisent de ne pas réaliser ce test systématiquement et surtout lors de l'utilisation de H-BAT<sup>®</sup>, mais de le réserver aux personnes à risque c'est-à-dire celles ayant des antécédents de réaction allergique ou des allergies déjà connues (aliments, pollen, médicaments...) ou ayant déjà reçu des antitoxines équine (par exemple, des anti venins contre les serpents ou araignées).

Aux USA, les antitoxines sont conservées au niveau de grands aéroports afin de permettre un acheminement rapide et leur libération requière une autorisation par les Centers of Disease Control and Prevention après demande par les autorités de santé locales (3,31).

En France, les antitoxines ne sont plus commercialisées et le traitement est essentiellement symptomatique. Cependant, elles peuvent être obtenues à l'étranger par procédure d'Autorisation Temporaire d'Utilisation. De nombreux pays de l'union européenne se fournissent également sur le marché international (principalement aux USA) dont l'Italie, la Belgique et l'Angleterre qui utilisent l'antitoxine trivalente essentiellement (32).

### **b) Traitement symptomatique**

Il consiste principalement en une intubation trachéale associée à une ventilation artificielle dans les cas où une détresse respiratoire apparait. En France, sur les 72 personnes atteintes de botulisme entre 2013 et 2016, 40 ont été sous assistance respiratoire (25,26,27,28).

Une nutrition entérale par sonde gastrique ou parentérale par voie centrale peut s'avérer nécessaire dans les situations où la prise de nourriture est impossible.

## **4. Toxines impliquées**

Les toxines impliquées dans le botulisme alimentaire sont principalement les toxines de type A et B de *Clostridium botulinum* excepté au niveau de la région du cercle polaire arctique et en Alaska où la toxine E produite par *Clostridium botulinum* prédomine.

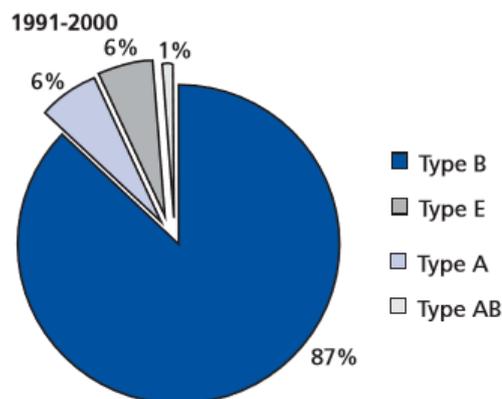
Ce sérotype est également présent au niveau de la mer Baltique. Cela est dû aux propriétés particulières que possèdent les spores de *Clostridium botulinum* de type E. En effet, ces dernières sont capables de survivre à des températures plus froides par rapport aux autres espèces (3).

<b>Organisme</b>	<b>Température de survie minimum</b>
<i>C. botulinum</i> type E	3,5° C
<i>C. butyricum</i> type E	10° C
<i>C. botulinum</i> type A et B	12° C

Tableau 23 : Température de survie minimum en fonction de différents *Clostridium* (3)

Ainsi, *Clostridium botulinum* de type E est présent au niveau du littoral et dans les mers bordants ces régions. Les spores peuvent donc se retrouver dans les entrailles de poissons et d'animaux marins (3).

En France, ce sont les intoxications via la toxine B de *Clostridium botulinum* qui prédominent (21,22,23).



Pourcentages donnés par rapport au nombre de foyers dont l'aliment est suspecté ou identifié

Figure 24 : Type de toxine en cause dans les foyers de botulisme en France, 1991-2000 (21)

Un foyer de botulisme alimentaire dû à la toxine F de *Clostridium barati* a été recensé en France en 2015 après consommation d'une sauce bolognaise réalisée à partir de viande hachée surgelée contaminée. Ce type de toxine n'est que très rarement impliqué dans des cas de botulisme, le premier cas recensé en France date de 2014 sans que son origine n'ait pu être déterminé (18).

## 5. Aliments mis en cause

Le botulisme alimentaire étant dû à l'ingestion de toxine préalablement formée cela implique que la germination des spores a lieu dans les aliments. Cependant, les spores ne peuvent germer que dans des conditions particulières à savoir :

- un environnement humide
- anaérobie
- avec une faible acidité ( $\text{pH} > 4,5$ )
- une salinité  $< 5\%$ .

Certaines pratiques de préparations ou de conservation des aliments favorisent ces conditions (3).

### a) Les conserves maisons

Les conserves maison sont connues pour être un facteur de risque important de contracter le botulisme alimentaire. Une étude recensant le nombre de cas de botulisme en Italie entre 1985 et 2015 a démontré que les conserves maisons étaient à l'origine de 80 % de ces cas de botulisme alimentaires (20).

Le botulisme alimentaire est principalement présent en zone rurale. En France, les régions dont l'incidence est la plus élevée se trouvent dans le centre du pays (Vienne, Allier, Indre, Saône et Loire, Creuse) (28).

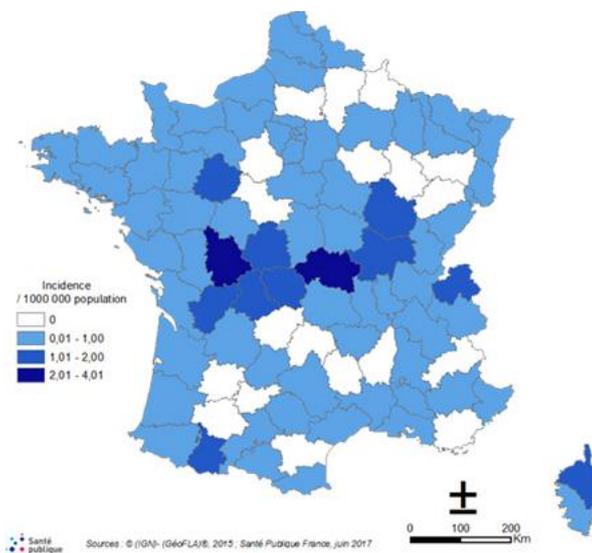


Figure 25 : Incidence annuelle moyenne du botulisme par département, France, 1991-2016 (28)

En effet, il existe généralement une tradition de préparation de conserve maison plus forte dans ces régions.

Ces cas de botulisme sont généralement dus à une préparation et un stockage inadéquat des bocaux utilisés dans la réalisation de ces conserves. Les conserves maisons les plus à risque sont celles de végétaux conservés dans de l'huile puis ceux conservés dans une saumure, les champignons et les olives sont fréquemment incriminés (20).

## b) La charcuterie

En France, la consommation de charcuterie et principalement celle de préparation familiale est également souvent mise en cause. Ainsi, entre 1991 et 2000, la charcuterie était incriminée dans 79% des cas de botulisme alimentaire dont l'aliment était identifié (21,22,23,24).

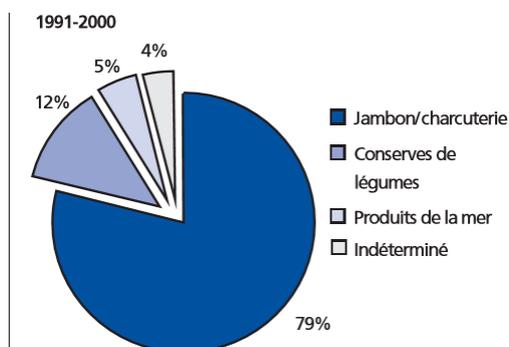


Figure 26 : Aliments en cause dans les foyers de botulisme diagnostiqués en France, 1991-2000 (21)

De même, entre 2010 et 2012, la consommation de charcuterie est à l'origine de 7 foyers de botulisme alimentaire sur les 14 foyers dont l'aliment responsable a pu être identifié.

De mauvaises techniques de salage lors de la préparation de jambon par exemple (concentration en sel et temps de salage insuffisants) associé au fait que le porc est fréquemment porteur sain de *Clostridium botulinum* de type B en font une source importante d'intoxication.

D'autres types de charcuterie comme le saucisson, les saucisses, les terrines et le pâté préparés maison sont également des causes de contamination (20,21,22,23,24,25,26,27,28)

Aliment	Type de toxine	Titre en toxine (DLS/g) <sup>a</sup>	Identification de <i>C. botulinum</i>	Foyer (malades)	Année
Jambon	B	20 000	<i>C. botulinum</i> B4	1 (2)	2013
Jambon	B	20 000	<i>C. botulinum</i> B4	1 (3)	
Chorizo, saucisse (origine Portugal)	B	<16	Souche non isolée	1 (2)	
Jambon	B	40	<i>C. botulinum</i> B4	1 (4)	2014
Terrine de porc (origine Pologne)	B	20 000	<i>C. botulinum</i> B4	1 (1)	2015
Steak haché (sauce bolognaise) <sup>b</sup>	F	0	<i>C. baratii</i> F7	1 (3)	
Jambon	B	4 à 1 000 <sup>c</sup>	<i>C. botulinum</i> B4	1 (2)	
Pâté de faisán	A	1 600	<i>C. botulinum</i> A1	1 (3)	
Jambon blanc commercial	B	<10	<i>C. botulinum</i> B4	1 (1)	
Chorizo (Portugal) <sup>d</sup>	B			1 (1)	
Jambon	B	40 000	<i>C. botulinum</i> B4	1 (3)	2016
Jambon	B	40	<i>C. botulinum</i> B4	1 (2)	
Jambon	B	2 000	<i>C. botulinum</i> B4	1 (4)	
Jambon	B	10 000	<i>C. botulinum</i> B4	1 (3)	
Charcuteries portugaises			<i>C. botulinum</i> B4 <sup>e</sup>	1 (1)	

<sup>a</sup> DLS : Dose létale souris.

<sup>b</sup> La sauce bolognaise préparée avec le steak haché n'était plus disponible pour analyse.

<sup>c</sup> Quatre échantillons de jambon avaient des titres en toxine de 4, 8, <4 et 1 000 DLS/g.

<sup>d</sup> La contamination du chorizo et des foyers associés ont été déterminés au Portugal. Aucun échantillon de chorizo n'a été adressé au CNR.

<sup>e</sup> Souche isolée des selles du malade, aucun reste de charcuteries n'était disponible pour analyse.

Figure 27: Aliments identifiés à l'origine des cas de botulisme alimentaire, France 2013-2016 (28)

### c) Préparations fermentées/fumées

Dans l'Arctique, les autochtones possèdent des techniques de préparations des aliments et notamment de fermentations traditionnelles d'animaux marins qui remplissent parfaitement les conditions nécessaires au développement des spores et à la production de toxine.

En Alaska, les plats traditionnels tels que le muktuk (lard de baleine avec la peau), les « stinky eggs » ou « stinky fish » qui sont préparés à partir d'œufs ou de têtes de poissons conservés dans de la peau animale enterrées dans un trou creusé dans le sol puis recouvert de mousses et qui sont laissés plusieurs jours voire plusieurs semaines afin de fermenter sont souvent incriminés dans les intoxications de botulisme.

De plus, avec l'évolution des modes de vie, la peau des animaux utilisée comme contenant a tendance à être remplacée par des barils en plastique ou des sacs en plastique refermables. Bien que cela améliore les conditions d'hygiène, ces nouvelles

pratiques favorisent également les conditions anaérobies nécessaires à la germination des spores.

Par ailleurs, l'huile de phoque est parfois utilisée pour la conservation de ces préparations ce qui procure un environnement anaérobie idéal pour le développement de la bactérie.

Le sérotype E est responsable de 90% des cas d'intoxication via la consommation de plats préparés selon les techniques ancestrales (3).



Figure 28 : Préparation de Muktuk, plat traditionnel (3)

Des techniques de fermentation des aliments proches de celles décrites précédemment sont utilisées dans d'autres pays du monde. En Asie et notamment en Chine et au Japon, des cas de botulisme ont été incriminés dus à des plats à base de tofu ou de soja fermenté. Des poissons préparés suivant des techniques similaires de fermentation appelés respectivement « Rakfisk » et « Faseikh » en Norvège et en Egypte sont également mis en cause (3).

Le poisson fumé est également connu comme un facteur de risque de botulisme principalement de type E. En effet, le procédé de fumage atteint des températures entre 60 et 80°C qui ne sont pas suffisantes pour détruire les spores de *Clostridium botulinum*.

Plusieurs cas de botulisme dû à la consommation de poissons fumés ont été documentés dans la littérature notamment en Finlande, Allemagne, USA et Israël (30).

#### **d) Conservation dans l'huile**

Des aliments conservés dans de l'huile ont été incriminés dans des cas de botulisme. Par exemple, des légumes conservés dans de l'huile d'olive, le Utjak qui correspond à des nageoires de phoques non cuites conservées dans de l'huile de phoque.

En effet, ce type de conservation est un facteur de risque important car cela favorise les conditions anaérobies (3,20).

### **e) Produits industriels**

Cependant, les aliments d'origine industrielle peuvent également être responsables de cas de botulisme. Les exemples sont nombreux : pâtes fraîches, fromages industriels, enchiladas surgelées, légumes séchés. Ils sont d'autant plus à risque en fonction de leurs modalités de conservation. Par exemple, les emballages sous vide ou sous atmosphère modifiée recréent les conditions anaérobies idéales au développement des bactéries et à la production de la toxine.

Des cas de contamination suite à une mauvaises conservations des aliments notamment des aliments réfrigérés conservés à température ambiante ont été rapportés (21,24).

Cela étant, l'origine de la contamination n'est pas toujours connue de façon certaine, la collecte et/ou la mise en évidence de la toxine ou de la bactérie dans des échantillons de nourriture suspectée n'est pas toujours possible. De plus, les nouveaux circuits de fabrication et de distribution et les augmentations des importations/exportations favorisent une étendue internationale.

Le tableau ci dessous présente différents exemples de types d'aliments impliqués dans des foyers de botulisme alimentaire à travers le monde entre 2000 et 2009.

Year	Country	Product	Bacterium	Toxin type	Cases (deaths)	Reference
2000	France	Home-made asparagus soup	Proteolytic <i>C. botulinum</i>	B	9	Abgueguen et al. (2003)
2001	USA	Commercial frozen chilli sauce	Proteolytic <i>C. botulinum</i>	A	16	Kalluri et al. (2003)
2001	Australia	Reheated chicken	Non-proteolytic <i>C. botulinum</i>	E	1	Mackle et al. (2001)
2001	USA	Home-made fermented beaver tail and paw	Non-proteolytic <i>C. botulinum</i>	E	3	CDC (2001)
2001	Canada	Home-made fermented salmon roe (2 outbreaks)	Non-proteolytic <i>C. botulinum</i>	E	4	Anon (2002)
2002	South Africa	Commercial tinned pilchards	Proteolytic <i>C. botulinum</i>	A	2(2)	Frean et al. (2004)
2002	Canada	Restaurant, baked potato in aluminium foil	Proteolytic <i>C. botulinum</i>	A	1	Bhutani et al. (2005)
2002	USA	Home-made "muktuk" (from Beluga whale)	Non-proteolytic <i>C. botulinum</i>	E	12	McLaughlin et al. (2004)
2003	Germany	Home salted air-dried fish	Non-proteolytic <i>C. botulinum</i>	E	3	Eriksen et al. (2004)
2003	France	Commercial halal sausage	? <sup>a</sup>	B	4	Espie et al. (2003)
2004	Germany	Commercial vacuum-packed smoked salmon	Non-proteolytic <i>C. botulinum</i>	E	1	Dressler (2005)
2004	USA	Home-made pruno (2 outbreaks)	Proteolytic <i>C. botulinum</i>	A	5	Vugia et al. (2009)
2004	Italy	Restaurant preserved green olives in saline	? <sup>a</sup>	B	16	Cawthorne et al. (2005)
2005	UK	Travel from Georgia	Proteolytic <i>C. botulinum</i>	A	1	McLaughlin et al. (2006)
2005	Turkey	Homemade suzme (condensed) yoghurt	Proteolytic <i>C. botulinum</i>	A	10(2)	Akdeniz et al. (2007)
2005	USA	Home-salted unevicerated fish	Non-proteolytic <i>C. botulinum</i>	E	5	Sobel et al. (2007)
2005	Italy	Home canned baby food	Proteolytic <i>C. botulinum</i>	A	1(1)	Lonati et al. (2009)
2006	USA	Home fermented tofu	Proteolytic <i>C. botulinum</i>	A	2	Meyers et al. (2007)
2006	Thailand	Home canned bamboo shoots	Proteolytic <i>C. botulinum</i>	A	209	Ungchusak et al. (2007); Wongtanate et al. (2007)
2006	Canada/USA	Commercial refrigerated carrot juice	Proteolytic <i>C. botulinum</i>	A	6(1)	CDC (2006); Sheth et al. (2008)
2006	Iran	Traditional soup (Ashmast)	Non-proteolytic <i>C. botulinum</i>	E	11	Vahdani et al. (2006)
2006	Finland	Commercial vacuum-packed smoked whitefish	Non-proteolytic <i>C. botulinum</i>	E	1	Lindström et al. (2006)
2006	Taiwan	Fermented goat meat (Cinkrugan)	? <sup>a</sup>	B	5	Tseng et al. (2009)
2007	USA	Commercial hot dog chilli sauce	Proteolytic <i>C. botulinum</i>	A	4	CDC (2007)
2007	Australia	Commercial nacho meal	Proteolytic <i>C. botulinum</i>	A	1	Anon (2007)
2008	France	Commercial chicken enchiladas	Proteolytic <i>C. botulinum</i>	A	2	King (2008)
2009	France	Commercial vacuum-packed hot-smoked whitefish	Non-proteolytic <i>C. botulinum</i>	E	3	King et al. (2009)

Figure 29 : Exemples d'aliments mis en causes dans des foyers de botulisme alimentaire (7)

## 6. Prévention

L'identification de la source de contamination reste primordiale afin de mettre en place les mesures nécessaires pour éviter l'apparition de nouveaux cas principalement pour les intoxications via des produits industriels ou dans des restaurants.

Ainsi, en France, 3 cas de botulisme alimentaire survenus dans un restaurant à la suite de consommation de sauce bolognaise préparée à partir de viande contaminée ont entraîné la fermeture de ce restaurant après que l'investigation par les autorités (Direction Départementale de la Protection des Populations) ait montré des manquements aux règles de préparation et de stockage des aliments.

Lors de l'implication de produits industriels, un rappel de lot est alors effectué.

La majorité des cas étant due à des préparations maisons, il est donc important de rappeler les mesures d'hygiène essentielles ainsi que les bons procédés de fabrication de ces préparations maison :

- hygiène de la préparation : nettoyage soigneux des végétaux ainsi que des bords et des emballages utilisés
- respect des consignes de stérilisation lors de la préparation de conserves maison
- ajout d'agents acidifiants (acide citrique par exemple) pour prévenir la formation des spores recommandé lors de la réalisation des conserves de la plupart des végétaux
- pour les charcuteries de préparation familiale, respect des concentrations en sel de la saumure et du temps de saumurage afin que les concentrations efficaces en NaCl atteignent le cœur du produit.

Lors de la consommation d'une conserve :

- si possible, chauffer la conserve à une température de 80°C pendant 30 minutes ou de 100°C pendant 10 minutes afin de détruire la toxine
- ne pas consommer la nourriture provenant d'une boîte de conserve bombée ou déformée (dû à la présence de gaz dégagé par la bactérie).

Lors de la consommation de produits industriels, il est impératif de respecter les consignes de conservation des aliments et la chaîne du froid (2, 3,19).

## C. Le botulisme infantile

Le botulisme infantile est dû à l'ingestion de spores de *Clostridium botulinum* qui vont germer pour donner des bactéries, lesquelles vont coloniser le tube digestif du nourrisson et produire la toxine botulique in situ.

Une dizaine voire une centaine de spores sont capables de causer la maladie.

Le premier cas a été identifié en 1976 aux USA.

C'est la forme de botulisme la plus répandue aux USA avec une moyenne de 100 cas annuels mais elle reste plutôt rare en France (seulement quelques cas répertoriés : 7 cas entre 1991 et 2009).

*Clostridium botulinum* de type A et B sont les plus impliqués dans les cas de botulisme infantile. Une intoxication par le type A amènerait à une forme plus sévère nécessitant une hospitalisation plus longue.

Le temps d'incubation est variable allant de 1 à 10 jours voire jusque 30 jours selon les études (2,35,36,37,39).

### 1. Symptômes

Le botulisme infantile touche les nourrissons âgés entre 2 semaines et 1 an bien que dans une majorité de cas, les nourrissons sont âgés de moins de 6 mois.

En effet, à cet âge, le système immunitaire ainsi que le tube digestif ne sont pas encore matures.

De plus, la flore intestinale n'a pas la même composition qualitative et quantitative qu'à l'âge adulte ce qui rend le nourrisson plus sensible à la colonisation du tube digestif par les bactéries du genre *Clostridium*.

Une production moins importante d'acide gastrique rend également l'environnement favorable au développement des bactéries.

Le botulisme infantile débute généralement par une constipation c'est-à-dire par l'absence de selles pendant au moins 3 jours consécutifs.

Puis les symptômes plus spécifiques du botulisme apparaissent :

- léthargie /hypotonie,
- diminution des expressions du visage,
- diminution de l'appétit avec perte du réflexe de succion,
- perte de tonicité du cou,
- troubles oculomoteurs (mydriase, ptosis),
- paralysie des nerfs crâniens
- paralysie flasque bilatérale descendante qui touche en premier les membres supérieurs puis les muscles respiratoires notamment le diaphragme ce qui peut entraîner le décès (35,36,37).

Symptôme clinique	Fréquence n (N <sup>a</sup> )
<i>Troubles digestifs</i>	
Constipation	7 (7)
Diarrhée	0 (7)
Vomissements	0 (7)
Occlusion	0 (6)
<i>Troubles oculomoteurs</i>	
Mydriase	4 (5)
Paralysie oculomotrice extrinsèque	2 (6)
Ptosis	3 (6)
Xérophtalmie	0 (6)
<i>Paralysies</i>	
Dysphagie	4 (6)
Membres	3 (7)
Diaphragme	2 (7)
Cordes vocales	1 (6)

<sup>a</sup> Les informations cliniques complètes n'étaient pas disponibles pour tous les enfants. Le dénominateur pour chaque symptôme est présenté individuellement par symptôme entre parenthèses (N). Pour certains symptômes, il est donc inférieur à 7.

Figure 30 : Signes cliniques des 7 cas de botulisme infantile déclarés en France entre 1991 et 2009.  
(37)

Il n'y a en revanche pas d'atteinte du système sensoriel, et le nourrisson ne présente pas de fièvre.

Le taux de mortalité du botulisme infantile reste faible (<1% aux USA).

Cependant, des formes soudaines et fulgurantes de botulisme infantile pourraient à l'origine de certains cas de morts subites du nourrisson. Mais plusieurs études montrent des résultats différents sur ce sujet. Dans une étude allemande, *Clostridium botulinum* a ainsi été isolé lors d'analyses post-mortem dans 15 cas de morts subites du nourrisson sur 72 étudiés. En revanche, la recherche de *Clostridium botulinum* menées lors d'une étude australienne sur 248 échantillons de cas de morts subites du nourrisson n'a pas été concluante (35,37).

## 2. Facteurs de risques

### a) Le miel

Parmi les facteurs de risques principaux se trouve la consommation de miel. En effet selon une étude qui recense les cas de botulisme infantile entre 1976 et 2006, une consommation de miel a été rapportée dans 59% des cas dans le monde (hors USA). Le miel (ce produit hyperosmolaire ne permet pas le développement des bactéries mais permet la survie des spores) est la seule source alimentaire de contamination par des spores de *Clostridium botulinum* identifiée jusqu'à présent (38,39).

## **b) L'environnement**

Cependant, la source de contamination reste souvent inconnue.

L'hypothèse d'une contamination par ingestion de spores fixées sur des microparticules de poussières a été avancée.

Ainsi, l'habitation en milieu rural ou à proximité d'une ferme fait partie des facteurs de risques.

En effet, ce type d'environnement favoriserait une exposition plus importante aux poussières elles-mêmes vectrice de spores notamment dans les régions dont la concentration en spores dans les sols est plus importante.

De plus, la constipation provoquant une diminution du péristaltisme intestinale laisse plus de temps aux spores de germer et de développer la bactérie (35,38).

### **3. Diagnostic**

Dans le cas du botulisme infantile, la toxine et/ou la bactérie peuvent être mises en évidence dans des échantillons de selles, de contenu gastrointestinal, de nourriture suspectée ou d'environnement (poussières...).

Cependant, la toxine est plus rarement détectée dans le sérum à l'inverse des cas de botulisme alimentaire.

Les tests réalisés sont identiques à ceux pratiqués dans les cas de botulisme alimentaire et décrits précédemment (29).

Tout comme le botulisme alimentaire, le diagnostic différentiel du botulisme infantile est souvent difficile à réaliser. Une confusion avec les maladies présentées ci-dessous est possible :

- sepsis
- méningite
- syndrome de Reye
- myopathie congénitale
- amyotrophie spinale
- maladie mitochondriale (38).

### **4. Traitement**

La prise en charge des nourrissons atteint de botulisme infantile nécessite une hospitalisation et consiste à l'administration d'antitoxines associé à un traitement symptomatique. Une antibiothérapie peut être envisagée dans certains cas.

## **a) Antitoxines**

Le traitement spécifique du botulisme infantile consiste en l'administration d'anticorps anti-toxine botulique humains qui vont neutraliser la toxine botulique de type A ou B qui n'est pas encore fixée.

Ce médicament est obtenu à partir d'un mélange de plusieurs plasmas provenant d'adultes immunisés contre le botulisme suite à l'administration d'au moins 5 doses d'anatoxine pentavalente (contre A, B, C, D et E) et dont le titre d'anticorps anti-toxine A et B est important.

Il permet de diminuer les risques d'effets indésirables par rapport aux antitoxines équine utilisées chez l'adulte et une potentielle sensibilisation à vie aux protéines équine.

Cette administration consiste en une dose unique de 50 mg/kg (soit 1mL/kg) en intraveineux sur 2 heures, sachant qu'une dose contient 15 UI d'anticorps anti-toxine A et 4 UI d'anticorps anti-toxine B.

Ce traitement est commercialisé aux USA depuis 2003 sous le nom de BabyBIG®. Son administration doit être la plus rapide possible après l'apparition des premiers symptômes. En effet, l'antitoxine doit être injectée dès les premiers soupçons de botulisme et cela sans attendre la confirmation du diagnostic par les résultats des tests biologiques.

Plus le traitement est administré tôt, meilleurs seront les résultats obtenus. Les études menées afin d'évaluer l'efficacité et la sécurité du traitement ont démontré qu'il permettait une diminution du temps moyen d'hospitalisation, de la durée moyenne des soins intensifs et une réduction des coûts d'hospitalisation.

Un léger rash cutané transitoire peut survenir suite à l'administration du traitement mais de façon générale les effets indésirables sont assez rares.

Ce traitement n'est pas disponible en France. Il peut cependant être obtenue sous ATU (Autorisation Temporaire d'Utilisation) après demande auprès de l'ANSM par le pharmacien responsable de l'établissement concerné. Néanmoins, dans les situations où le traitement n'est pas accessible, une utilisation de l'antitoxine équine réservée à l'adulte peut être envisagée.

Aux USA, le traitement est distribué uniquement par The Infant Botulism Treatment and Prevention Program (3,20,35,37,40).

## **b) Antibiothérapie**

L'utilisation d'antibiotiques afin d'éradiquer la bactérie des intestins peut être considérée. Dans ce cas, les antibiotiques de choix appartiennent à la famille des  $\beta$ -lactamines.

Cependant, elle n'est pas systématiquement recommandée. En effet, l'utilisation d'antibiotiques peut provoquer une augmentation de la libération de la toxine et donc une exacerbation des symptômes cliniques.

Par ailleurs, des complications infectieuses pendant l'hospitalisation peuvent parfois survenir (otite, pneumonie d'inhalation due à la ventilation, infections urinaires). Ainsi l'antibiothérapie devra être envisagée avec soin.

De plus, en 2013, un premier cas de résistance de *Clostridium botulinum* de type A2 aux pénicillines et au métronidazole a été identifié chez un nourrisson de 2 mois. Ainsi, avant un traitement par antibiotique, il est recommandé de tester la sensibilité de *Clostridium botulinum* (34,35,36).

### **c) Traitement symptomatique**

Malgré tout, le traitement symptomatique reste essentiel afin de diminuer le risque de complication.

L'étude de sécurité et d'efficacité de Baby-BIG® menée entre 1992 et 1997 sur 122 patients a montré que  $\frac{3}{4}$  des nourrissons nécessitaient des soins intensifs. Les difficultés respiratoires occasionnaient une assistance respiratoire par ventilation mécanique dans la moitié des cas.

Une supplémentation alimentaire par sonde gastrique ou voie intraveineuse est également souvent mise en place.

La récupération complète peut prendre plusieurs semaines voire plusieurs mois. Elle est effective une fois régénérescence des terminaisons nerveuses et des motoneurones.

Dans une étude recensant tous les cas de botulisme en Italie entre 1985 et 2015, la durée moyenne d'hospitalisation dans les cas de botulisme infantile était de 33 jours avec un maximum de 150 jours.

Néanmoins, la bactérie peut être excrétée dans les selles jusque 2 à 4 mois après l'apparition des premiers symptômes (35,36,37,40).

## **5. Cas particulier : la toxi-infection**

Cette forme de botulisme peut également survenir chez l'adulte mais de façon épisodique.

En effet, la composition de la flore intestinale permet en temps normal une protection de la colonisation du tube digestif par les bactéries du genre *Clostridium*. Ainsi, les

spores peuvent être ingérées puis excrétées sans qu'il y ait germination et production de toxine dans le tube digestif de l'adulte.

Cependant, suite à une désensibilisation de cette flore (à cause d'une antibiothérapie ou d'une opération par exemple) ou à cause de malformations du tube digestif (diverticule de Meckel), d'inflammation chronique du tube digestif, les bactéries responsables du botulisme vont réussir à se développer dans les intestins et causer la maladie.

Cette forme de botulisme est également désignée sous le nom de toxi-infection (20).

## 6. Prévention

Tout d'abord, la consommation de miel étant une source de contamination possible, par mesure de prévention, l'OMS recommande de ne jamais donner de miel à un enfant de moins de 1an.

Dans certains pays, notamment aux USA, ce message de prévention est inscrit sur les pots de miel.

De plus, du fait de l'excrétion de la bactérie dans les selles, une attention particulière devra être portée lors du changement des couches et pour le lavage minutieux des mains.

Il existe des études contradictoires sur le rôle de l'allaitement maternel dans la prévention ou non contre le botulisme infantile. D'une part, une proportion plus importante de nourrissons contractant le botulisme serait allaitée. Cependant, une autre étude démontre que l'allaitement maternel retarderait la progression de la maladie. Par ailleurs, d'autres études démontreraient qu'un nourrisson nourrit au lait artificiel développerait le botulisme plus jeune et sous une forme plus fulminante (34,35).

## D. Le botulisme par blessure (= botulisme des plaies)

Le botulisme par blessure est causé par la contamination d'une plaie ou d'un abcès par la bactérie ou des spores qui produisent ensuite la toxine in vivo.

Il peut survenir suite à des plaies de différentes natures :

- traumatique (fracture ouverte...)
- complication post-opératoire
- sinusite
- injection de drogue

Le premier cas a été décrit aux USA en 1951.

Seules les types de toxines A et B s'avèrent être impliqués dans le botulisme par blessure (41,44).

### 1. Symptômes

A la différence des cas de botulisme alimentaire ou infantile, le botulisme par blessure ne débute pas par des symptômes d'ordre digestif comme des vomissements ou une diarrhée ou une constipation, ces derniers étant absents du tableau clinique.

Cependant, les symptômes neurologiques sont identiques. Ils débutent généralement avec un ou plusieurs des symptômes suivants :

- vision trouble
- diplopie (vision double)
- focus difficile
- ptosis (paupières tombantes)
- relâchement des muscles du visage
- léthargie
- dysphagie
- dysphonie
- dysarthrie (difficulté à articuler).

Puis les symptômes suivants peuvent apparaître :

- faiblesse du cou et des bras
- faiblesse des membres inférieurs
- paralysie respiratoire.

A l'inverse des autres modes de contamination, une fièvre peut être présente.

Une infection concurrente peut être présente et la plaie apparaît généralement infectée. Une étude recensant le nombre de cas de botulisme par blessure en Californie entre 1951 et 1998 a montré que la plaie apparaissait infectée dans 85% des cas pour lesquels l'information était connue. Cependant, le nombre de spores qui doivent contaminer la plaie pour provoquer le botulisme n'est pas connu mais il

est très faible à tel point que la plaie ne semble pas forcément infectée et la présence d'un abcès n'est pas systématique (42).

La période d'incubation est plus difficile à évaluer dans les cas de botulisme par blessure surtout chez les consommateurs de drogues car en effet une majorité s'injecte de la drogue quotidiennement voire plusieurs fois par jour (41,43,44).

## 2. Facteurs de risque

### a) Consommation de drogue

Les principales personnes atteintes par ce type de botulisme sont les toxicomanes. Le premier cas de botulisme suite à l'injection de drogue a été décrit à New York en 1982.

Pour ce type de botulisme, le mode de contamination majeur est l'injection d'héroïne par voie intra-musculaire ou sous-cutanée encore appelée « skin-popping ». La consommation de drogue par voie intraveineuse réduit un peu le risque de contamination car la bactérie ne se développe pas dans le sang mais il existe toutefois un risque de contamination non intentionnelle des tissus voisins. Par ailleurs, l'utilisation de « black tar héroïne » qui est une résine d'héroïne de mauvaise qualité provenant majoritairement d'Amérique du Sud est particulièrement incriminée surtout dans les cas recensés aux USA qui comptent plus de 90% des cas de botulisme par blessure recensé dans le monde sur la période de 1951 à 1998. Ils sont principalement concentrés en Californie (42).

Des cas de contamination par inhalation de cocaïne ont également été documentés (44).

Certains pays d'Europe (principalement l'Irlande, le Royaume-Uni et la Norvège) connaissent une forte augmentation des cas de botulisme par blessure depuis les années 2000 et ce principalement à cause d'une augmentation du nombre de cas dus à l'injection de drogues. Ainsi, entre 2000 et 2013, le Royaume-Uni compte 167 cas de botulisme par blessure diagnostiqués cliniquement alors qu'avant l'année 2000 aucun cas de botulisme par blessure n'avait été recensé. De plus, entre décembre 2014 et février 2015, 23 cas de botulisme via injection d'héroïne ont été répertoriés en Norvège et en Ecosse. Le rapprochement de ces cas sur le plan temporel et géographique fait craindre une circulation de lots d'héroïne contaminée en Europe (42).

Les spores de *Clostridium* peuvent être introduites à tout moment : soit lors de la production d'héroïne, de son transport, de son stockage ou lors de l'addition d'agent de coupure ou de groupage soit par contamination de l'environnement.

De plus, en Europe, l'héroïne se consomme majoritairement sous forme de poudre brune/noire qui nécessite un diluant acide comme l'acide citrique afin d'augmenter sa faible solubilité dans l'eau avant l'injection. Or la répétition d'injections dans le muscle

de solutions acides provoque des dommages sur les muscles et réduit le débit sanguin ce qui favorise les conditions anaérobies nécessaires au développement de la bactérie et à la production de toxine.

Par ailleurs, le fait de chauffer l'héroïne afin de la solubiliser avant l'injection ne détruit pas les spores de *Clostridium*.

L'utilisation de matériel contaminé pour l'injection de drogue est également une source possible de contamination (42,44).

### 3. Diagnostic

#### a) Mise en évidence de la bactérie et de la toxine

En plus des échantillons de sérum habituels, la toxine et la bactérie peuvent être détectées dans des échantillons de tissu et de pus prélevés au niveau de la blessure. Dans les cas d'intoxication via une consommation de drogue, le matériel nécessaire à l'administration ainsi qu'un échantillon de drogue quand celle-ci est disponible peuvent également être étudiés et un prélèvement nasal peut être réalisé si la consommation se fait par inhalation.

Les tests pratiqués sont identiques à ceux réalisés dans les cas de botulisme alimentaire (29).

#### b) Diagnostic différentiel

Le botulisme n'est pas la première cause évidente lors de symptômes d'une paralysie bulbaire. De plus, il est parfois difficile de faire la distinction avec les symptômes d'une overdose notamment au niveau des troubles de l'élocution.

Cependant, il doit être considéré chez les toxicomanes présentant un tableau clinique suivant : symptômes de paralysie flasque descendante symétrique avec faiblesse des muscles squelettiques et insuffisance respiratoire associée à une étiologie de consommation de drogues et principalement d'héroïne par injection intramusculaire ou sous-cutanée (33,41).

Disease	Clinical features
Botulism	Acute bilateral cranial neuropathies and symmetrical descending weakness, no fever unless intercurrent infection, only sensory deficit may be blurred vision, history of exposure – ingestion, IDU or a traumatic wound.
Guillain–Barré Syndrome (GBS)	Antecedent febrile illness, ascending symmetrical paralysis, loss of sensation, parasthesia, pain, early loss of reflexes, electromyograph may help differentiate, antiganglioside antibody may be elevated in CSF or serum with GBS or Miller Fisher, no augmentation of modified action potential with repetitive nerve stimulation at 20–50 Hz in contrast to botulism.
Miller Fisher variant of GBS	Antecedent febrile illness, ascending paralysis, parasthesia, pain, early loss of reflexes, internal and external ophthalmoplegia with ataxia which is more marked than limb weakness.
Myasthenia gravis	Muscular fatigability, resolution of paralysis with Tensilon (but some improvement seen in some cases of botulism), recurrent paralysis, sustained response to anticholinesterase therapy.
Spinal/paralytic poliomyelitis	Antecedent febrile illness, asymmetrical paralysis, altered CSF, meningeal irritation, almost never sensory loss.
Viral encephalitides	Fever, altered mental state, abnormal CSF, asymmetric weakness, EEG findings.
Cerebrovascular accident	Sensory deficits, asymmetric hyperactive deep tendon reflexes.
Tick paralysis	Travel to endemic area (Australia, USA), presence of female tick, parasthesia of affected extremities, ascending paralysis, loss of deep tendon reflexes, rare cranial nerve involvement, occasional cerebellar ataxia, tick may be hidden in long hair.
Paralytic shellfish poisoning	History of consumption of shellfish (or rarely fish), incubation of <1 h, numbness of face and lips, parasthesia, normal reflexes, respiratory paralysis.
Rabies	Not necessarily following a recent bite, can be months, ascending paralysis, incoordination, pharyngeal spasm particularly on drinking but not due to a breeze of air.

Figure 31 : Maladies pouvant être confondues avec le botulisme lors du diagnostic (41)

#### 4. Traitement du botulisme par blessure :

La base du traitement du botulisme par blessure est identique à celui du botulisme alimentaire c'est-à-dire qu'il correspond à l'administration d'antitoxines le plus rapidement possible associée à une prise en charge symptomatique.

A ceci s'ajoute une incision, irrigation et drainage de l'abcès avec un débridement de la plaie ou de l'abcès qui consiste à retirer les adhérences fibreuses et les tissus nécrosés situés au niveau de la plaie.

Une antibiothérapie est également nécessaire afin d'éradiquer la bactérie. En effet, dans les cas de botulisme alimentaire, l'exposition à la toxine est limitée à la quantité de toxine préformée dans l'aliment. En revanche, dans les cas de botulisme par blessure la toxine est produite au niveau de la plaie tant que la bactérie n'est pas éliminée.

Les antibiotiques recommandés dans le traitement du botulisme appartiennent à la famille des pénicillines<sup>24</sup>. Plusieurs cas de botulisme par blessure ont été traité avec de la pénicilline G à haute dose par voie intraveineuse avec succès.

Des tests réalisés in vitro ont également démontré une sensibilité de *Clostridium botulinum* à d'autres antibiotiques tels que :

- les tétracyclines
- le métronidazole
- le chloramphénicol
- la vancomycine
- la clindamycine.

En revanche, *Clostridium botulinum* est résistant aux aminoglycosides/aminosides et à l'association sulfaméthoxazole et triméthoprime commercialisée en France sous le nom de Bactrim®.

De plus, les aminoglycosides/aminosides forment une classe d'antibiotique connue pour aggraver les symptômes du botulisme du fait de leur interaction au niveau de la membrane pré-synaptique et de la potentialisation du blocage de la jonction neuromusculaire, ils ne sont donc pas conseillés (43,44).

## 5. Prévention :

Selon le site de l'ECDE (European Center for Disease Prevention and Control), les mesures à mettre en place afin de diminuer les risques de cas de botulisme par blessure via injection de drogues sont les suivantes :

- sensibiliser davantage les hôpitaux et les établissements de santé au diagnostic et au traitement du botulisme par blessure chez les consommateurs de drogues, ainsi que rendre compte aux autorités de santé publique compétentes
- sensibiliser les consommateurs d'héroïne, leurs proches sur les signes et les symptômes de l'infection par le botulisme par blessure et sur l'importance d'une consultation médicale immédiate
- encourager les utilisateurs d'héroïne à réduire ou arrêter leur consommation d'héroïne en favorisant l'accès à un traitement de substitution aux opiacés correctement dosé
- encourager les documents utiles pour l'investigation et le contrôle, tels que les définitions de cas, le matériel éducatif, les questionnaires d'investigation, les protocoles de traitement et les documents utiles pour élaborer une stratégie de communication auprès des populations vulnérables
- poursuivre les investigations médico-légales au niveau national et européen pour identifier les lots contaminés d'héroïne et limiter l'apparition de cas supplémentaires de botulisme par plaie
- assurer la disponibilité de flacons anti-toxines pour les cas futurs possibles. Étant donné que de grands groupes de cas pourraient éventuellement se produire, des mécanismes facilitant la mobilisation de l'anti-toxine dans les pays de l'Union Européenne devraient être envisagés (42).

La prévention passe également par l'information des usagers sur le respect des règles d'hygiène lors de l'injection de drogues :

- ne pas partager d'aiguilles ou tout autre matériel
- préférer un matériel d'injection à usage unique
- maîtriser les techniques d'injection de façon stérile.

Cependant, la réalisation d'une étude n'a pas permis de mettre en évidence une diminution du nombre de cas de botulisme par blessure chez les consommateurs de drogue grâce au nettoyage du matériel ou de la peau ce qui suggère que la source

principale de contamination serait l'héroïne ou les substances ajoutées et non la peau ou l'environnement du consommateur. Par ailleurs, ces mesures d'hygiène restent essentielles afin de diminuer le risque de contamination par d'autres maladies (41).

### **III. Le botulisme chez les animaux**

#### **A. Le botulisme aviaire**

##### **1. Les oiseaux sauvages aquatiques**

###### **a) Epidémiologie**

Le botulisme aviaire semble être une maladie majeure chez les oiseaux et touche une large variété d'espèces. Selon le US Geological Survey National Wildlife Health Center, des épidémies de botulisme aviaire ont été recensées dans 28 pays répartis sur tous les continents exceptés en Antarctique. Elles ont été observées chez 264 espèces d'oiseaux appartenant à 39 familles différentes.

Certaines sont cependant plus vulnérables.

Les espèces sauvages les plus touchées sont les oiseaux aquatiques. En effet, parmi les 39 familles, 22 sont des familles d'oiseaux aquatiques avec une prévalence importante dans la famille des Anatidés (canards, oies...) et des Laridés (mouettes, goéland...).

Le botulisme aviaire est notamment lié à la disparition du Goéland marin au niveau du lac Ontario et au déclin du Canard de Pilet aux Etats-Unis.

Le terme de botulisme hydrique est parfois employé pour désigner ce type de botulisme.

Sa surveillance épidémiologique en France est réalisée par le réseau SAGIR qui a été créé en 1986 par l'Office National de la chasse et de la faune sauvage.

C'est un système de surveillance de la faune sauvage basé sur le signalement des cas de mortalité anormale parmi les animaux sauvages par les chasseurs et les gardes nationaux, le botulisme aviaire chez les oiseaux sauvages étant une maladie à déclaration obligatoire.

Cependant, la prévalence du botulisme sauvage reste difficile à évaluer (15,45,46,49).

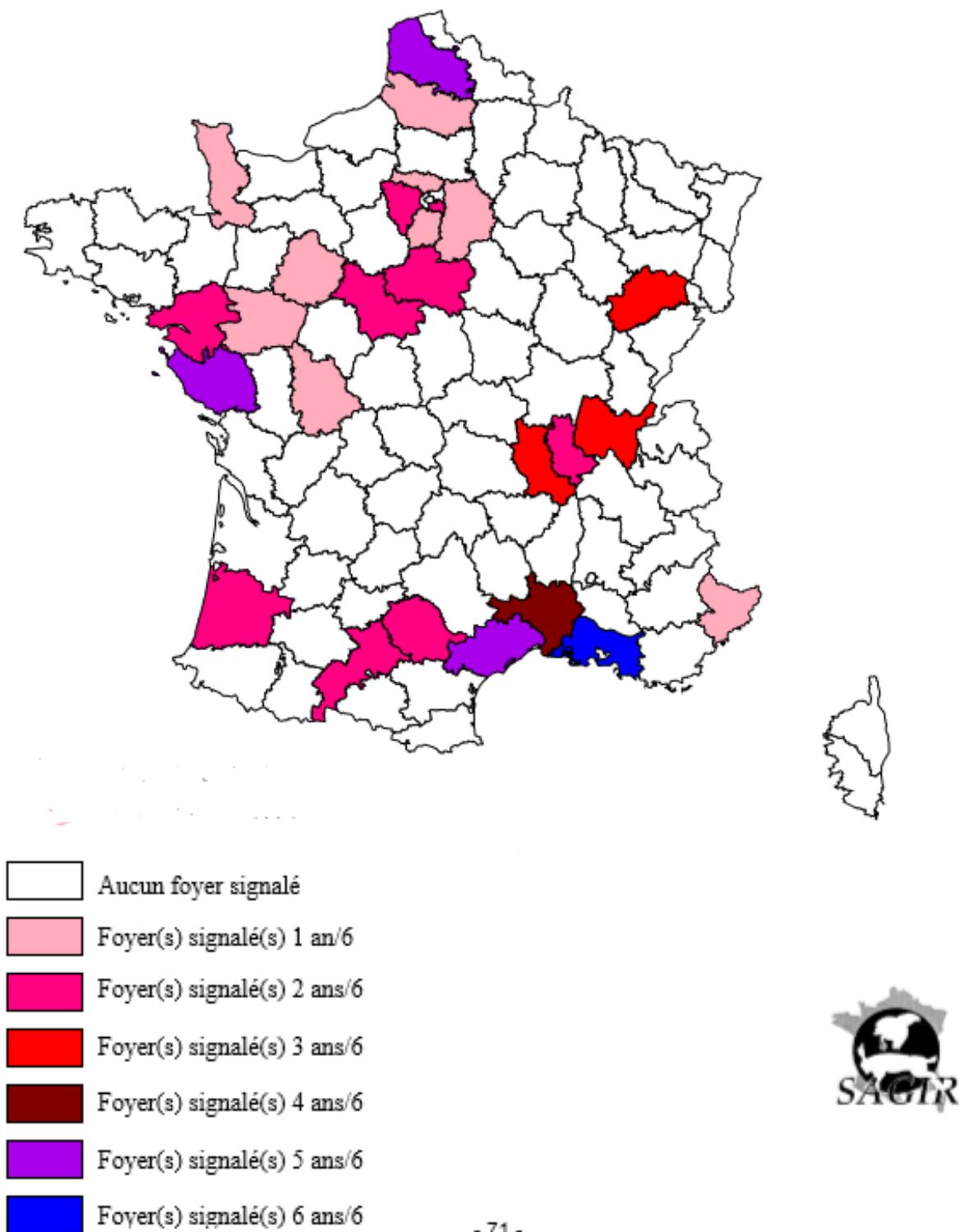


Figure 32 : Distribution et fréquence des foyers de botulisme recensés par le réseau SAGIR entre 1995 et 2000 inclus (15)

## b) Symptômes

Le botulisme aviaire est caractérisé par une paralysie flasque ascendante des muscles :

- des pattes,
- des ailes,
- du cou,
- des paupières,
- de la membrane nictitante (*3<sup>ème</sup> paupière translucide qui protège et humidifie l'œil*)

Les conséquences de ces paralysies sont :

- le positionnement de l'animal en décubitus sternal,
- des difficultés d'envol ou de locomotion,
- un port d'ailes anormal (ailes "en toit"),
- un cou flasque à l'origine de noyades,
- des difficultés respiratoires (15,48).



Figure 33 : Allure caractéristique de paralysie flasque chez une dinde atteinte de botulisme (15)



Figure 34 : Dinde présentant une paralysie flasque du cou et les paupières tombante (15)

Des diarrhées verdâtres ainsi que des problèmes de déglutition et de péristaltisme à l'origine de régurgitation peuvent également être observées.

De plus, le botulisme ne provoque pas de lésions visibles à l'autopsie (15,46).

### **c) Toxines responsables**

Les toxines les plus fréquemment impliquées dans le botulisme aviaire sauvage sont les toxines C et D et leur mosaïque C/D produites par *Clostridium botulinum*.

Des cas de botulisme due à la toxine E de *Clostridium botulinum* ont également été recensés ponctuellement dans la baie de Canche en France en 1996 chez des mouettes et goëlands et plus fréquemment dans la région des Grands Lacs aux USA (15,46,48).

### **d) Sources de contamination**

L'initiation d'un foyer de botulisme semble résulter de la combinaison de plusieurs facteurs.

#### **(1) L'environnement**

Des foyers de botulisme chez les oiseaux aquatiques sont recensés partout à travers le monde.

En effet, les spores de *Clostridium botulinum* sont présentes de façon ubiquitaire dans l'environnement et sont notamment retrouvées dans les sédiments au niveau des régions humides ou des marais abritant les espèces d'oiseaux aquatiques.

De plus, ces dernières sont très résistantes à la chaleur ou à la sécheresse ce qui leur permet de rester viables plusieurs années et ainsi être à l'origine de récurrences.

Par ailleurs, les spores sont également retrouvées dans le tractus digestif des espèces peuplant ces zones (oiseaux, poissons, insectes aquatique, mollusques...).

Cependant, une forte densité de spores n'est pas une condition suffisante à l'initiation d'un foyer de botulisme, le développement de la bactérie et la production de la toxine répondant à des conditions environnementales particulières.

D'après plusieurs études, la température, le pH et le potentiel d'oxydo-réduction de l'eau sont des facteurs très importants pour le déclenchement d'une épidémie. L'interaction entre ces facteurs est décrite dans le schéma suivant.

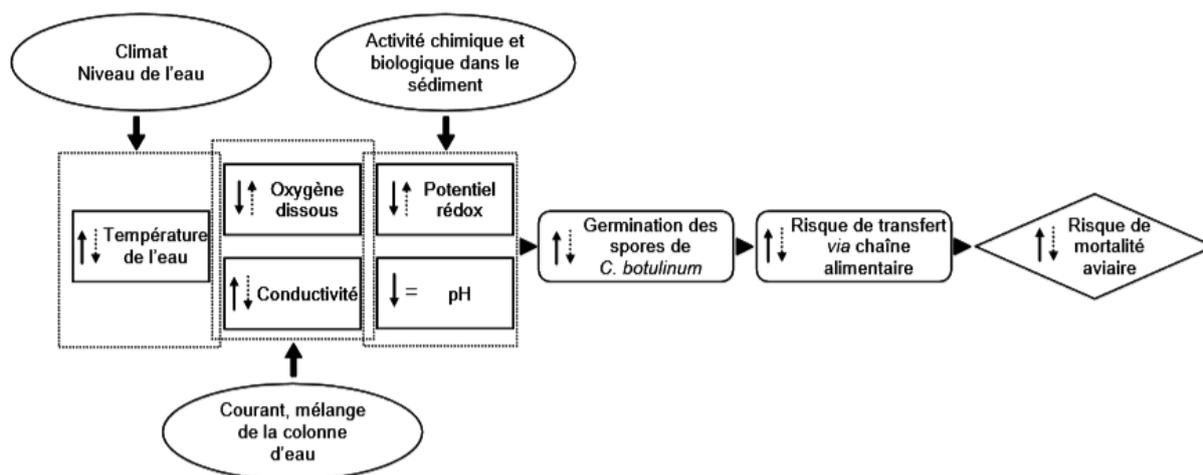


Figure 35 : Schéma représentatif de l'influence des conditions environnementales au niveau des plans d'eaux sur les épidémies de botulisme aviaire (48)

Le risque de botulisme aviaire est plus important lorsque le pH se situe entre 7,5 et 9, que le potentiel d'oxydo-réduction est négatif et que la température de l'eau est supérieure à 20°C.

Ainsi, plusieurs études ont démontré que les foyers de botulisme apparaissaient majoritairement entre l'été et l'automne en raison des températures des plans d'eau plus élevées.

De même, il a été démontré qu'un bassin peu profond ainsi que la présence d'eaux stagnantes offraient des conditions anaérobies idéales pour la bactérie.

De plus, plusieurs études supposent un impact de l'activité humaine sur l'environnement et l'écosystème de ces zones dans les épidémies de botulisme.

Une pollution menant à une eutrophisation<sup>2</sup> du milieu entretient une faible quantité d'oxygène dans le milieu offrant de bonnes conditions de développement à la bactérie.

Cela provoque également des changements d'habitats et le développement d'espèces invasives qui renforcent ces conditions anaérobies.

Ainsi, des études menées sur le Lac Erie aux USA ont démontré un lien entre l'augmentation des cas de botulisme aviaire due à la toxine E et l'émergence d'espèces invasives telles que des moules et des cladophores (microalgues) causée par les activités humaines à proximité (45,46,48).

## (2) Le régime alimentaire

La présence d'invertébrés aquatiques dans le régime alimentaire des oiseaux est considérée comme un facteur de risque de l'initiation d'un foyer de botulisme.

<sup>2</sup> Eutrophisation : processus qui provoque accumulation de nutriments (minéraux et matière organique) avec diminution des quantités d'oxygène.

Par exemple, la présence du gène de *Clostridium botulinum* codant pour la toxine mosaïque C/D a été détectée dans 30% des échantillons de gastéropodes d'eau douce de type *Physa acuta* collectés dans une étude réalisée entre 2011 et 2012 au niveau de trois marais situés dans le centre de l'Espagne, ces gastéropodes étant consommés par certaines espèces d'oiseaux aquatiques.

Par ailleurs, certains asticots nécrophages permettent la contamination d'oiseaux aquatiques via un processus décrit sous le nom de « the carcass maggot cycle ».

Les carcasses d'animaux riches en matières organiques en décomposition contenant des spores de *Clostridium botulinum* deviennent un substrat idéal au développement de la bactérie et de sa toxine. Les asticots qui s'y développent et qui ne sont pas sensibles aux effets de la toxine deviennent alors des véhicules de la toxine pour les oiseaux sains qui les consomment.

Une étude a mis en évidence que des asticots présents sur des carcasses pouvaient contenir jusqu'à 400 000 DL Souris/g.

Ainsi, dans des conditions environnementales favorables et lors d'un épisode de mortalité importante chez certaines espèces d'animaux ayant ingéré des spores de *Clostridium botulinum* et ce quel qu'en soit la raison, celui-ci peut être suivi par un épisode de botulisme aviaire via ce processus. Ces nouvelles carcasses d'oiseaux deviennent à leur tour une source de contamination pour d'autres oiseaux.

Ceci peut contribuer à expliquer l'initiation et la propagation de façon exponentielle d'un foyer de botulisme (15,45,46).

Des cas de botulisme chez les oiseaux piscivores ont également été observés. Traditionnellement, le type de botulisme est plutôt associé à la toxine E.

Cependant, en 1996, une épidémie de botulisme de type C est survenue en Californie et a été responsable des symptômes cliniques ou des décès chez environ 1 500 hérons, pélicans et autres oiseaux piscivores. La toxine avait alors été détectée chez 50% d'une espèce de poisson qui était dominante dans les eaux du lac à cette époque (45).

Un portage asymptomatique et transitoire des spores de *Clostridium botulinum* dans le tractus digestif des oiseaux aquatiques est envisagé. Selon un rapport sur le botulisme chez les oiseaux sauvages mené par l'Afssa en 2002, 50% des oiseaux sains fréquentant un site contaminé par le botulisme hébergent des spores de *Clostridium botulinum*.

De plus, il est suggéré que les oiseaux peuvent disséminer les spores de *Clostridium botulinum* via leur selle après qu'ils les aient ingérés via des sédiments ou de la nourriture et qu'ils aient transité dans leur tractus digestif et cela sur plusieurs kilomètres (15,46).

## e) Prévention

La prévention du botulisme et le contrôle des épidémies chez les espèces sauvages d'oiseaux aquatique passe avant tout par des actions menées sur le plan d'eau et par une surveillance sanitaire.

Par exemple :

- maintien d'une hauteur d'eau minimum dans le bassin
- un assèchement régulier du bassin
- un curage des sédiments
- le faucardage des berges (retrait les plantes poussant dans l'eau)
- le retrait régulier des carcasses.

Par ailleurs, bien qu'un vaccin monovalent contre la toxine C et un vaccin bivalent contre les toxines C et D de *Clostridium botulinum* existent, une vaccination à grande échelle des oiseaux sauvages est irréalisable (15,45).

## 2. Elevage avicole

### a) Epidémiologie

Le botulisme touche également les élevages industriels de volailles.

Les données épidémiologiques sur le botulisme aviaire dans les élevages en France sont rassemblées par le Réseau National d'Observations Epidémiologique en Avicultures (RNOA) qui fait état d'environ une vingtaine de cas de botulisme par an. Une recrudescence importante a été observée à partir de 2006 avec un pic de 121 cas en 2007.

L'incidence est retombée à une vingtaine de cas par an depuis 2012 (47,50).

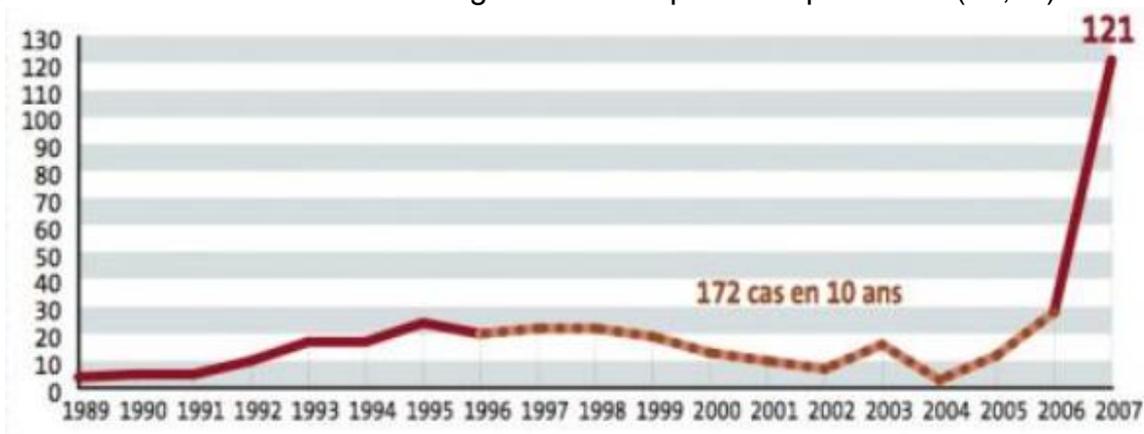


Figure 36 : Nombres de signalements de botulisme transmis au RNOA entre 1989 et 2007 (47)

Les productions avicoles les plus touchées sont celles de dindes et de poulets bien que des cas de botulisme sont également recensés dans les élevages de palmipèdes et de pintades.

Sur les 273 foyers de botulisme recensés en France entre 1997 et 2007 :

- Les dindes représentées 34% des espèces touchées
- Les poulets standards, 28%
- Les faisans 10%
- Les canards colverts 7%
- Les poulets labels 6,2%
- Les pintades 4%

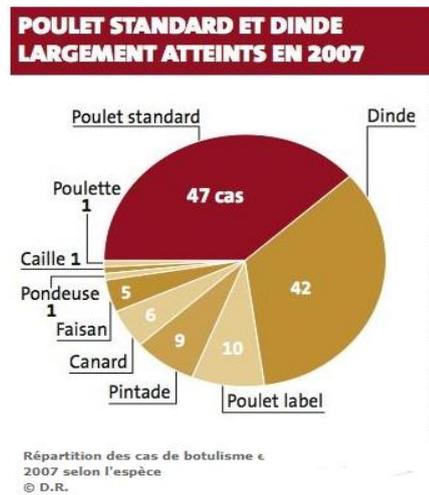


Figure 37 : Répartition des cas de botulisme en fonction des espèces en 2007 (47)

## b) Toxines responsables

Actuellement, selon les données du Centre National de Référence sur les bactéries anaérobies et du botulisme, le botulisme aviaire dans les élevages est principalement dû aux toxines C et D.

En 1997, des premiers cas de botulisme dus à la toxine E ont été identifiés en France. Depuis, seuls quelques cas épisodiques ont été rapportés (15,50).

## c) Sources de contamination

En théorie, la contamination peut se faire par :

- intoxication : ingestion de toxine préformée
- toxi-infection : ingestion de la bactérie ou spores

Les sources de contamination possible sont variées.

Tout d'abord, *Clostridium botulinum* étant une bactérie ubiquitaire, elle peut être retrouvée dans les sols, l'eau de boisson, le compost organique.

La contamination des sols peut servir de réservoirs à l'origine d'infections d'animaux sauvages notamment de petits rongeurs qui via leurs déjections ou leurs carcasses contaminent la litière des volailles.

Une contamination d'un point d'eau de boisson par une carcasse peut également être considérée comme source de transmission de la bactérie.

De plus, de même que pour les oiseaux sauvages, la consommation d'asticots nécrophages est une source de contamination envisageable.

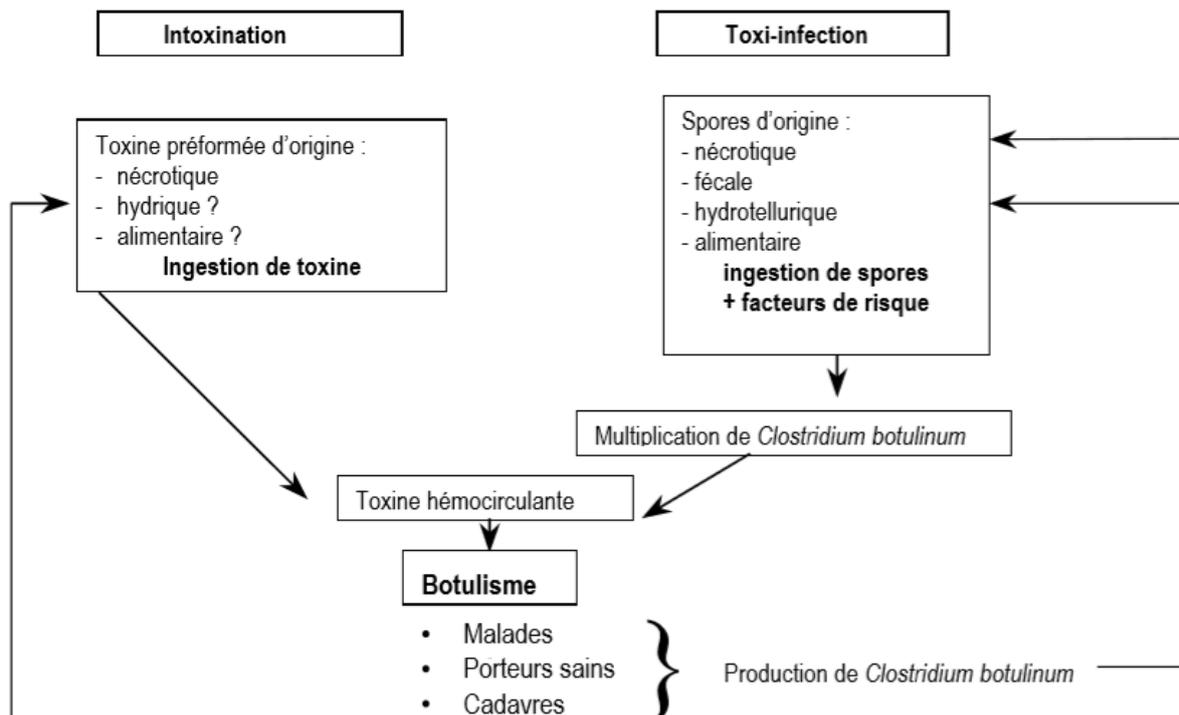


Figure 38 : Cycle du botulisme chez les volailles domestiques (15)

#### d) Prévention

La vaccination contre les toxines C et D est possible mais il n'existe aucun vaccin contre le sérotype E. Cependant, la vaccination représente généralement un coût trop important pour les élevages, celle-ci n'est donc pas réalisée en pratique.

La prévention du botulisme repose donc principalement sur des mesures sanitaires :

- séparation des animaux sains et malades lors d'épidémies
- retirer les cadavres 3 fois par jour
- destruction des lisiers et fumiers de volailles (15,50).

### 3. Risque de transmission à l'homme

La question de la transmission du botulisme aviaire à l'homme peut se poser. Cependant, l'homme possède une faible sensibilité pour les toxines C et D qui sont majoritairement responsables des cas de botulisme chez les oiseaux.

La question est plus préoccupante pour les cas de botulisme dus à la toxine de type E pour laquelle l'homme possède une sensibilité plus importante.

Ainsi à la suite de l'émergence des foyers de toxine E dans la filière avicole, un groupe de travail composé d'experts a été créé au début des années 2000 dans le but d'évaluer le risque de transmission à l'homme de *Clostridium botulinum* à partir d'animaux infectés.

Le risque de contamination humaine via le botulisme aviaire a ainsi été évalué faible.

Par ailleurs, aucun cas de botulisme humain associé à la consommation de produits issus de la filière avicole n'a été recensé.

Il a toutefois été ajouté la liste des MRC (Maladies Réputées Contagieuses) en 2006 dans le but de mettre en place des mesures sanitaires pour encadrer l'assainissement des foyers, limiter la dissémination du pathogène et prévenir le risque éventuel pour le consommateur (15,50).

8 mesures pour prévenir la transmission d'un botulisme au consommateur ont été établies :

- 1- remise systématique, lors de l'abattage de lots de volailles, des fiches d'élevage avec indication des mortalités quotidiennes et des traitements effectués.
- 2- déclaration et typage obligatoire des foyers de botulisme selon un protocole en trois points, incluant des prélèvements de sérums, de tubes digestifs et d'aliments.
- 3- lors de botulisme dangereux pour l'homme, isolement et remise des souches de *Clostridium botulinum* au Centre National de Références des Bactéries Anaérobies.
- 4- gestion de l'épidémiosurveillance du botulisme aviaire par le Réseau National d'Epidémiosurveillance en Aviculture (RENESA),
- 5- constitution d'un groupe de travail composé d'experts pour définir une fiche d'enquête épidémiologique à réaliser lors de cas de botulisme dangereux pour l'homme.
- 6- rendre obligatoire la recherche bactériologique de *Clostridium botulinum* dans les matières premières à risque destinées à l'alimentation animale dont les « farines de poisson ».
- 7- sensibiliser les professionnels et diffuser des mesures spécifiques de prophylaxie.
- 8- développer des recherches pour améliorer les mesures de prophylaxie des clostridioses en élevages avicoles (15).

## B. Le botulisme chez les bovins

Malgré le fait que cette maladie soit classée comme Maladie à déclaration obligatoire, l'incidence du botulisme bovin est difficile à évaluer.

### 1. Symptômes cliniques

Trois formes de botulisme chez le bovin ont été observées, le botulisme aigu, suraigu et subaigu.

Généralement, la période d'incubation est de 2 à 6 jours sachant que plus elle est courte, plus le pronostic est grave.

#### a) Botulisme suraigu

Le botulisme suraigu provoque le décès de l'animal en quelques heures.

L'animal se retrouve très vite en décubitus latéral, s'ensuit une paralysie puis le coma et enfin le décès de l'animal.

La maladie évoluant très rapidement, les symptômes cliniques n'ont pas le temps d'être observés.



Figure 39 : Bovin en décubitus latéral, phase terminale du botulisme (15)

#### b) Botulisme aigu

Le botulisme aigu évolue sur 2 à 3 jours.

Les manifestations cliniques ressemblent à celles observée chez l'homme. Elles débutent par des signes généraux :

- une anorexie
- un abattement
- une constipation
- une dyspnée.

Par la suite, une paralysie bulbaire provoque une paralysie flasque de la langue, des muscles de la mastication et de la déglutition ainsi qu'une sécheresse buccale et du muflle.

Une paralysie oculaire va également être responsable d'un ptosis et d'une mydriase.

La faiblesse des muscles va entraîner la chute de l'animal, ce dernier va alors se positionner en décubitus sterno-latéral puis en décubitus latéral en phase terminale ; il est alors incapable de se relever.



Figure 40 : Bovin atteint de botulisme en décubitus depuis plus d'une semaine (15)

Au dernier stade, la paralysie respiratoire est responsable du décès de l'animal par asphyxie.

### c) Botulisme subaigu

Le botulisme subaigu évolue sur 3 à 8 jours.

Dans cette forme, le premier symptôme observé est la paralysie flasque de la langue et les symptômes dus à la paralysie bulbaire sont atténués par rapport à la forme aigue.



Figure 41 : Bovin atteint de botulisme et présentant une procidence de la langue (15)

La paralysie des membres est plus progressive et touche en premier les membres postérieurs puis progresse vers les membres antérieurs.



Figure 42 : Illustration de la paralysie des membres postérieurs chez un ruminant (15)

Dans ce cas, une guérison est possible mais la convalescence est longue et peut prendre plusieurs semaines voire plusieurs mois.

## 2. Toxines responsables

Les toxines majoritairement impliquées dans les cas de botulisme chez les bovins sont essentiellement les toxines C et D et leurs mosaïques.

Cependant, des cas dus à la toxine B ont été rapportés notamment aux Pays-Bas dans les années 1977 et 1978. Cette toxine est responsable d'un tableau clinique particulier en l'absence de paralysie locomotrice caractéristique (15,51,52).

Cette forme de botulisme se manifeste par une anorexie, une déshydratation, une hypersalivation et une régurgitation des liquides.



Figure 43 : Bovins présentant une paralysie bulbaire entraînant une régurgitation des liquides (15)

## 3. Sources de contamination

Selon le rapport de l'ANSES sur le botulisme chez les animaux fourni en 2002, la contamination des bovins se fait essentiellement par toxi-infection. L'intoxication via la consommation de nourriture contaminée par la toxine botulique (par exemple le fourrage) est exceptionnelle.

Les oiseaux et les volailles sont suspectés de former un réservoir de *Clostridium botulinum* et pourrait être une source de contamination des bovins. En effet, des études ont relaté un lien entre les foyers de botulisme bovins et des élevages de volailles situés à proximité.

En 2003, des cas de botulisme bovins ont émergé en Angleterre, aux Pays-Bas et en Irlande du Nord. Dans plus de 90% de ces épidémies, les bovins étaient en contact direct avec les litières des volailles.

Dans ces cas, la contamination des bovins était probablement causée par l'utilisation de fumier obtenu à partir de litières de volailles contaminées par la bactérie comme fertilisant sur les pâtures des bovins.

D'autres sources de contamination sont également possibles, par exemple la contamination de l'eau ou de l'alimentation par de la matière organique en décomposition (carcasse d'animaux sauvages...) (15,51,52).

#### 4. Prévention

Deux vaccins bivalents contre les toxines C et D existe dans certains pays. Il s'agit de :

- Botulism vaccin®
- Ultravac botulinum®

La vaccination des bovins dès suspicion clinique de cas de botulisme dans un troupeau est recommandée.

Cependant, en France, ces vaccins ne sont pas commercialisés. Ultravac Botulinum® possède toutefois une Autorisation Temporaire d'Utilisation (ATU). Ainsi, il peut être importé en cas de besoin.

Le meilleur moyen d'éviter l'apparition des foyers de botulisme chez les bovins est de mettre en place des mesures préventives afin d'éviter la contamination de l'eau ou des aliments des bovins par des cadavres d'animaux (rongeurs, oiseaux...) en effectuant des récoltes régulières des carcasses.

Le traitement du fumier des volailles s'avère également essentielle dans la prévention du botulisme bovin. Ainsi, il est recommandé de ne pas stocker ce fumier à proximité des pâtures des bovins et de le couvrir afin d'éviter sa dissémination involontaire (15,51,52,53).

## C. Le botulisme chez les chevaux

### 1. Symptômes cliniques

Le botulisme chez les chevaux se traduit par :

- une faiblesse musculaire générale
- des tremblements décrits sous le terme de « shaker foal »
- une diminution du tonus lingual
- des troubles de la déglutition
- une mastication lente
- un égouttement de salive.

Les paupières tombantes et une mydriase sont également observées.

Ces premiers symptômes apparaissent généralement 18 à 36 heures après la contamination.

Si l'animal n'est pas traité, la maladie peut progresser vers une paralysie des jambes puis du tronc puis du système respiratoire pouvant entraîner le décès par insuffisance respiratoire, la sévérité clinique étant dépendante de la quantité de toxine ingérée.

Le rétablissement éventuel de l'animal nécessite environ trois semaines ce qui correspond au temps nécessaire à la régénération des terminaisons nerveuses motrices (54).

### 2. Toxines responsables

Les toxines responsables du botulisme chez les chevaux sont différentes en fonction de la localisation géographique.

En effet, en Amérique les principales toxines mises en cause sont les toxines A et B de *Clostridium botulinum* tandis qu'en Europe, ce sont les toxines C et D de *Clostridium botulinum*.

### 3. Sources de contamination

Trois formes de contamination sont rencontrées :

- L'intoxication alimentaire par consommation de fourrage ou d'eau contaminés par une toxine botulique. C'est la forme la plus répandue.
- La toxi-infection ou « shaker foal syndrome » qui apparaît chez les poulains après ingestion de spores qui vont germer dans l'intestin et produire la toxine.
- La contamination d'une plaie profonde par des spores, ce mode de contamination étant très rare.

#### 4. Diagnostic

Le diagnostic du botulisme chez les chevaux est basé sur l'observation du tableau clinique. Cependant les premiers symptômes rencontrés sont peu spécifiques et peuvent être attribués à d'autres maladies telles que la Maladie de L'herbe (Grass Sickness) ou la Maladie du neurone moteur du cheval.

En théorie, une confirmation du diagnostic par des tests laboratoire et notamment par le test de référence sur les souris peut être effectuée. Ces tests peuvent être réalisés sur des échantillons de sérum, de fourrage et en cas de décès de l'animal, sur une culture du contenu gastrique et de foie afin de mettre en évidence la toxine et/ou la bactérie.

Cependant, les chevaux sont beaucoup plus sensibles aux *Clostridium botulinum* de type C et D que les souris ainsi les faux positifs sont courants et la confirmation est difficile.

Sur les 38 chevaux cliniquement suspectés de botulisme en Suisse depuis 2001, aucun n'a pu être confirmé par des tests de laboratoire.

#### 5. Traitement

Le traitement du botulisme chez les chevaux est semblable à celui chez l'homme. En effet, dès les premiers soupçons de botulisme, l'administration d'antitoxines doit être réalisée.

Des mesures symptomatiques sont également mises en place :

- une administration d'eau et d'électrolytes par sonde nasogastrique ou voie parentérale quand la dysphagie est trop importante
- un support sternal ou élingage de l'animal quand la faiblesse musculaire est trop développée et que l'animal se trouve en position couchée
- une assistance respiratoire le cas échéant.

Un traitement complémentaire aux antitoxines par antibiotique s'avère nécessaire dans le cas d'une contamination par toxi-infection ou lors de la contamination d'une blessure, la pénicilline étant l'antibiotique de choix.

#### 6. Prévention

Le pronostic vital des chevaux atteint de botulisme est mauvais et les soins intensifs sont coûteux, aussi la prévention reste primordiale. Elle est basée sur la vaccination et la surveillance de la qualité du fourrage.

En effet, il existe différentes méthodes de conservation du fourrage telles que l'ensilage ou l'haylage.

L'ensilage est une méthode de conservation par voie humide passant par la fermentation lactique anaérobie.

L'haylage est une méthode de conservation par pré fanage poussé, puis stockage en silo hermétique, aboutissant à un produit intermédiaire entre le foin et l'ensilage.

Ces techniques offrent des conditions idéales au développement des toxines botulique et en font une source d'intoxication pour les chevaux.

Des normes de qualité très élevées doivent être ainsi respectées. Par exemple :

- éviter l'utilisation de litière de volailles comme engrais sur les pâturages.
- l'herbe ne doit pas être coupée à moins de 10 cm de hauteur
- le pH ne doit pas dépasser 4,5 pendant la fermentation
- éviter la production d'ensilage à partir de prairies densément peuplées de petits rongeurs ou oiseaux
- attention au stockage inadéquat

Il existe 2 types de vaccins commercialisés dans le monde pour les chevaux :

- Botulism Vaccin® contre les toxines C et D
- Bot Tox-B® ou BotVax® contre la toxine B

Ces derniers peuvent également être utilisés pour le bétail.

Ces vaccins sont de types anatoxines c'est-à-dire que ceux sont les molécules dérivées de la toxine dont les propriétés toxiques ont été retirées mais qui gardent ses propriétés immunologiques et donc sa capacité à stimuler le système immunitaire et entraîner la production d'anticorps.

Bien qu'ils soient efficaces, leur fabrication est longue et coûteuse et les produits chimiques utilisés dans le processus d'inactivation des toxines sont responsables d'effets indésirables importants (54,55).

#### D. Cas de portage asymptomatique chez d'autres espèces animales

Un portage asymptomatique potentiel de *Clostridium botulinum* est possible chez certaines espèces animales notamment :

- le porc
- le mouton
- la chèvre (15).

## Partie 2 : Utilisation de la toxine botulique

Le Botox très connu pour son utilisation en cosmétique dans la correction des rides n'est pas la première indication de la toxine botulique. En effet, celle-ci a d'abord été utilisée dans le traitement de diverses pathologies humaines.

A l'inverse, la toxine botulique peut également être utilisée à des fins néfastes en tant qu'arme biologique.

### I. Arme biologique

#### A. Définition

Le bioterrorisme se définit comme l'utilisation ou la menace d'utilisation de virus, de bactéries, de champignons, de toxines dans le but de provoquer intentionnellement une maladie ou le décès d'êtres humains.

Pour qu'un agent biologique soit classé comme arme biologique, celui-ci doit répondre à certaines caractéristiques. Le Center for Disease Control and Prevention (CDC) d'Atlanta a proposé une classification de ces agents biologiques en fonction de différents critères comme :

- la facilité de dissémination
- la transmission interhumaine
- la mortalité
- les conséquences en matière de santé publique (submersion des services médicaux, coût...)
- les perturbations sociales engendrées (panique des civils...)
- les exigences en matière de diagnostic et de surveillance (nécessité des soins intensifs, ventilation mécanique...) (59).

Selon cette classification, les agents biologiques sont répartis en 3 catégories : A, B ou C, la catégorie A comprenant les agents biologiques les plus dangereux.

La toxine botulique rassemble plusieurs de ces caractéristiques et est considérée comme une menace potentielle d'arme biologique ; elle est ainsi classée dans la catégorie A.

En effet, sa dose létale très faible fait d'elle le poison le plus puissant connu actuellement. De plus, la nécessité d'une hospitalisation et de soins intensifs plus ou moins prolongés à grande échelle pourrait entraîner un débordement des services de santé et un retentissement majeur sur la population (60).

Cette classification a été reprise sur le plan national puis européen et a permis l'établissement de fiches thérapeutiques spécifiques de prise en charge en fonction de chaque agent biologique appartenant à la catégorie A, définie comme prioritaire.

Agents biologiques	Maladie
<b>Catégorie A</b>	
<i>Variola major</i>	Variole
<i>Bacillus anthracis</i>	Charbon
<i>Yersinia pestis</i>	Peste
<i>Clostridium botulinum</i> (toxines botuliques)	Botulisme
<i>Francisella tularensis</i>	Tularémie
Filovirus et Arenavirus (par exemple, virus Ebola, virus Lassa)	Fièvres hémorragiques virales
<b>Catégorie B</b>	
<i>Coxiella burnetii</i>	Fièvre Q
<i>Brucella</i> spp.	Brucellose
<i>Burkholderia mallei</i>	Morve
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	Mélioïdose
alphavirus (virus de l'encéphalite équine du Venezuela, virus de l'encéphalite équine de l'est et de l'ouest)	Encéphalite
<i>Rickettsia prowazekii</i>	Typhus
Toxines (par exemple, ricine, entérotoxine B staphylococcique, toxine epsilon de <i>Clostridium perfringens</i> )	Syndromes toxiques
<i>Chlamydia psittaci</i>	Psittacose
Agents biologiques d'origine alimentaire (par exemple, <i>Salmonella</i> spp., <i>Escherichia coli</i> O157:H7, <i>Shigella</i> spp.)	
Agents biologiques transmis par l'eau (par exemple, <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Cryptosporidium parvum</i> )	
<b>Catégorie C</b>	
Par exemple, virus Nipah, Hantavirus	

Figure 44 : Classification des agents biologiques par le Center for Disease Control and Prevention d'Atlanta (60)

## B. Le plan Biotox

En France, le botulisme appartient au Plan Biotox. Ce plan fait partie d'un plan spécialisé de Vigipirate destiné à lutter contre une attaque biologique. Il a été créé en 2001 à la suite de la dispersion du *Bacillus anthracis* (bacille du charbon) par lettres aux Etats-Unis en 2001 (60).

## C. Mode de contamination

Etant donné que le botulisme est une maladie non contagieuse et que la transmission interhumaine de la toxine est impossible, les voies de contamination envisageables dans le cadre d'une attaque terroriste sont :

- par inhalation : la toxine botulique est dispersée dans l'air sous forme d'aérosol.
- par ingestion : la toxine botulique ou les spores sont dispersées dans la nourriture ou l'eau de boisson.

## 1. Par inhalation

Le mode de contamination par inhalation consisterait à répandre la toxine botulique sous forme d'aérosol dans l'air. Par inhalation, la dose létale 50 (dose qui tuerait 50% des personnes exposées) est de 0,003 µg/kg de poids corporel.

Ce scénario constitue le mode de contamination privilégié le plus probable envisagé dans le cadre d'une dissémination intentionnelle d'agents biologiques. De très fines particules d'agents biologiques sont dispersées sous forme d'aérosols et restent en suspension plusieurs heures dans l'air. Après inhalation, ces particules peuvent pénétrer jusqu'aux alvéoles pulmonaires et passer dans la circulation sanguine pour provoquer leurs effets.

Ce mode de contamination pourrait être susceptible d'affecter un grand nombre de personnes. En effet, 1g de toxine cristalline dispersée et inhalée pourrait tuer plus de 1 millions de personnes.

Il a, de plus, été estimé qu'une libération ponctuelle d'aérosol de toxine botulique pourrait neutraliser ou tuer 10% de la population dans un rayon de 500 mètres sous le vent.

Cependant, la réelle efficacité de la toxine botulique en tant qu'arme biologique reste difficile à évaluer car la toxine est facilement dénaturée par les conditions environnementales (températures, soleil...) et sa dissémination reste compliquée (Stabilité, transport, matériel aérosol utilisé...) (56,59).

## 2. Par ingestion

La seconde méthode de contamination envisagée afin de disséminer la toxine botulique serait par ingestion en contaminant des réserves de nourriture ou d'eau potable.

La contamination de nourriture semble cependant être une voie peu pratique principalement dans le cadre d'une contamination à grande échelle notamment de nourriture commerciale à cause des conditions particulières de développement et de dénaturation de la toxine botulique. En outre, la cuisson potentielle de certains aliments est une condition qui restreint leur utilisation comme vecteur de dissémination étant donné que la toxine est thermolabile.

Par contre, la contamination d'un réseau de distribution d'eau potable est un scénario fréquemment envisagé dans le cadre de bioterrorisme car la toxine est stable dans les fluides.

Cependant sa survie est peu probable dans les eaux traitées en raison de la teneur en chlore. La chloration des réseaux de distribution d'eau potable est susceptible d'inactiver partiellement la toxine (59).

#### D. Historique de l'utilisation de la toxine botulique comme arme biologique.

Les premiers témoignages de développement de la toxine botulique comme arme biologique remonte aux années 1930.

L'armée impériale japonaise possédait une unité militaire de recherche bactériologique (l'unité 731) dont le but était entre autres d'effectuer des recherches sur des maladies en vue de les utiliser comme arme biologique. Les responsables ont, par la suite, admis avoir nourris des prisonniers avec des cultures de *Clostridium botulinum* (58).

Plusieurs pays ont également mis en place par le passé des programmes militaires visant à développer la toxine comme arme biologique notamment les USA, l'Allemagne et l'URSS.

L'Irak a par ailleurs reconnu avoir produit 19 000 litres de toxine botulique. Cette quantité a été évaluée comme représentant trois fois la quantité nécessaire pour tuer la population mondiale. En 1991, pendant la guerre de Golf, il a été reporté que le pays possédait des missiles spécialement conçus et contenant la toxine botulique (58,59).

Une Convention sur l'interdiction des armes biologiques datant de 1972 a été instaurée et engage ses signataires à ne pas développer, produire, stocker ou utiliser des armes biologiques.

Cependant, plusieurs pays sont encore suspectés par le gouvernement américain de développer la toxine comme arme biologique comme par exemple l'Irak, la Corée du Nord, l'Iran et la Syrie (56,58).

Par ailleurs, la toxine botulique a déjà été utilisée à des fins terroristes par le passé.

Aux débuts des années 1990, une secte japonaise, le culte Aum Shinrikyo, a essayé sans succès, de libérer la toxine botulique sous forme d'aérosol à Tokyo en 3 occasions diverses en visant entre autres le parlement japonais et la base navale américaine de Yokosuka avant de finalement se rabattre sur l'utilisation du gaz Sarin. L'échec de cette opération pourrait être due à de mauvaises techniques microbiologiques, un matériel d'aérosolisation déficient ou un sabotage interne. Les souches de *Clostridium botulinum* utilisées avaient été récoltées directement dans le sol au nord du Japon (56,58).

## **Fiche n° 8 "Toxine botulique"**

Les toxines botuliques sont des substances protéiques produites par des bactéries anaérobies du genre *Clostridium*. Il existe sept types antigéniques désignés par des lettres de A à G.

Les toxines botuliques sont les plus puissants des poisons actuellement connus.

La maladie naturelle résulte le plus souvent de la consommation d'aliments contaminés, rarement de la contamination de blessures cutanées souillées par la bactérie. La toxine ne passe pas au travers d'une peau intacte.

Utilisées comme arme biologique les toxines sont dispersées par aérosol, inhalées par voie respiratoire, elles passent ensuite dans la circulation sanguine.

Les symptômes apparaissent quelques heures après l'absorption de la toxine. Une contamination massive peut être à l'origine d'un arrêt cardio-respiratoire brutal sans prodrome. Classiquement le botulisme est caractérisé par des signes oculaires (mydriase, presbytie aiguë) et un tableau de paralysie descendante bilatérale et symétrique sans fièvre, associée à des signes digestifs (sécheresse buccale et parésie gastro-intestinale).

La maladie n'est pas contagieuse.

### **Traitement**

Le traitement du botulisme et sa surveillance impliquent une hospitalisation.

#### Traitement symptomatique

Surveillance cardiaque et respiratoire (en milieu de réanimation).

#### Traitement curatif

Des immunoglobulines anti-botuliques heptavalentes (A, B, C, D, E, F, G) et des immunoglobulines divalentes (A et B) peuvent permettre un traitement spécifique du botulisme.

### **Prophylaxie**

Pas de vaccin disponible à ce jour.

## II. Utilisation thérapeutique

### A. Historique

La toxine botulique est la première toxine biologique à obtenir une autorisation pour le traitement de maladies humaines.

L'idée de son utilisation en thérapeutique ne date pas d'hier. En effet, dès ces premiers travaux au début du XIX<sup>ème</sup> siècle, Kerner suggère que la toxine pourrait être utilisée à des fins thérapeutiques notamment dans des maladies résultant d'une surexcitation du système nerveux comme la chorée de Huntington connue sous le nom de Saint Vilus à cette époque, ou encore contre la rage, une sudation ou production de mucus excessive ou en prévention contre des infections (peste, fièvre jaune...)

Cependant, il faudra attendre 1973 pour qu'un ophtalmologue de San Francisco, Alan Scott, démontre que la toxine peut être utilisée dans le traitement du strabisme.

En 1989, la Food and Drug Administration approuve le premier médicament produit à partir de toxine botulique A. Il est alors indiqué dans le traitement du blépharospasme et des spasmes hémifaciaux.

Dans les années qui suivent, les indications de la toxine A ne cessent de croître. Ainsi aujourd'hui, les toxines botuliques sont indiquées pour le traitement de nombreuses pathologies (dystonie cervicale, troubles vésicaux...) ainsi qu'en cosmétique pour la correction des rides (1).

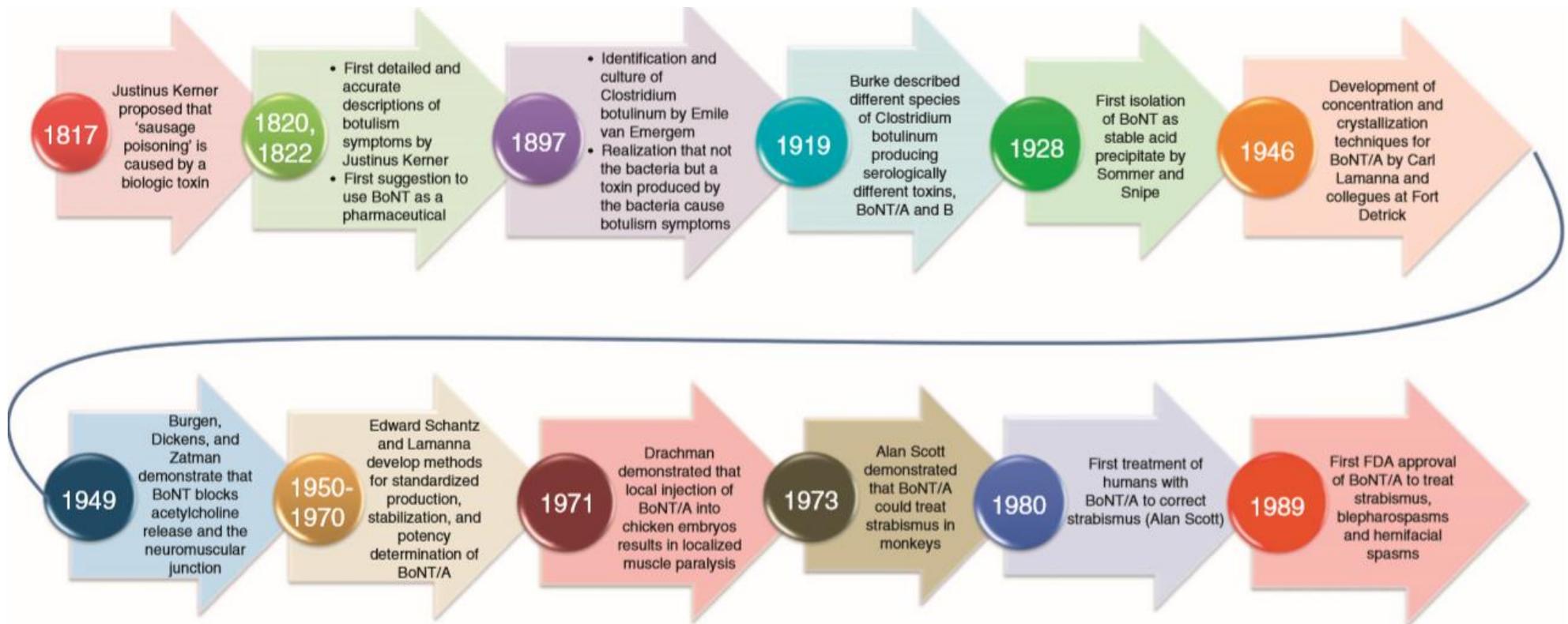


Figure 45 : Principales étapes de découverte et de développement de la toxine botulique comme agent thérapeutique (1)

## B. Produits présents sur le marché français

Parmi tous les sérotypes de toxines botulique présents dans la nature, seuls deux sont utilisés en thérapeutique, le sérotype A et le sérotype B.

Trois préparations commerciales à usage thérapeutique contiennent la toxine A, il s'agit de :

- Botox® (anabotulinumtoxin A)
- Dysport® (abobotulinumtoxin A)
- Xeomin® (incobotulinumtoxin A)

En revanche, une seule préparation contient la toxine B. Il s'agit de :

- Neurobloc® (rimabotulinum B).

Ces médicaments sont inscrits sur la liste I et sont réservés à un usage hospitalier.

Ces préparations contiennent un type de neurotoxine botulique (A ou B) de 150 KDa associée à un complexe de protéines non toxiques (également retrouvées à l'état naturel) et des excipients.

Ces protéines non toxiques sont appelées protéines complexantes et sont de type hémagglutinant ou non hémagglutinant. (65)

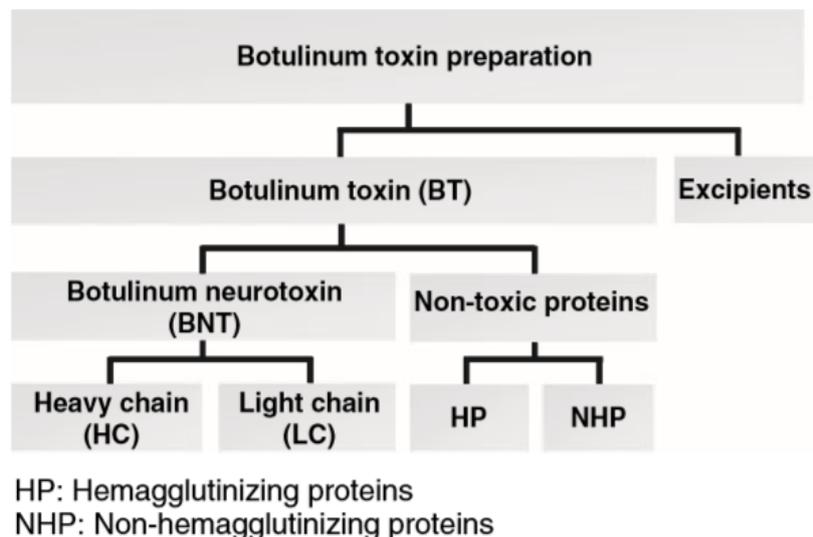


Figure 46 : Schéma représentatif de la composition des préparations thérapeutiques à base de toxine botulique (66)

Botox® et Dysport® contiennent des protéines complexantes de 300 KDa, Neurobloc® de 150 KDa et Xeomin® ne contient pas de protéines complexantes.

Par la suite, la neurotoxine et ses protéines complexantes s'associent sous forme de dimère pour former des complexes de 300, 600 ou 900 KDa comme présenté sur le schéma ci-dessous (66).

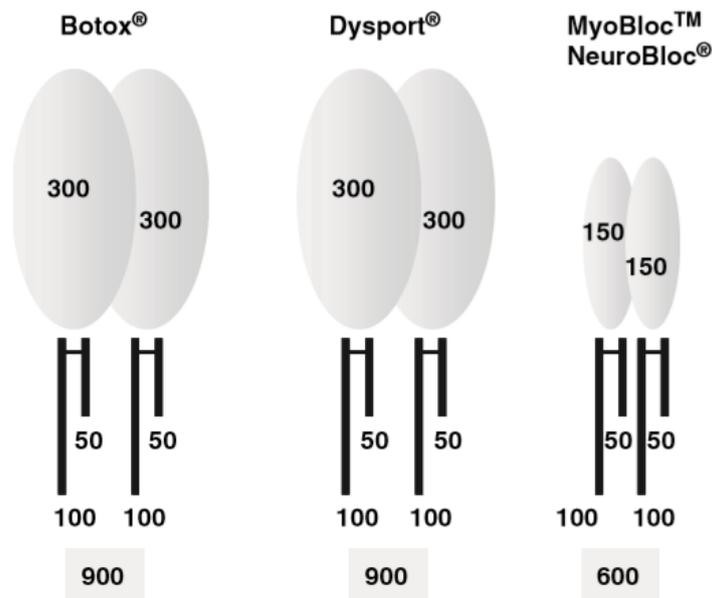


Figure 47 : Structure de la toxine botulique dans les différentes préparations médicamenteuses. (66)

Les excipients associés aux préparations sont de natures diverses : sérumalbumine, lactose, NaCl...

Les caractéristiques de chaque préparation sont détaillées dans le tableau suivant.

Trade name	Botox®	Dysport®	Xeomin®	Myobloc®/Neurobloc®
Generic name	OnabotulinumtoxinA	AbobotulinumtoxinA	IncobotulinumtoxinA	RimabotulinumtoxinB
Company	Allergan Inc (United States)	Ipsen (France)	Merz Pharmaceuticals GmbH (Germany)	US WorldMeds (United States)
Serotype	A	A	A	B
Packaging, U/vial	100	500	100	2500, 5000, or 10,000
Constituents and excipients	Hemagglutinin, human albumin, saccharose, sodium chloride	Hemagglutinin, human albumin 20% solution, lactose	Human albumin, saccharose	Hemagglutinin, human albumin solution 0.05%, sodium chloride, sodium succinate
pH	7.4	7.4	7.4	5.6
Complex size, KDa	900	900	150	700
Preparation	Vacuum dried	Lyophilized	Lyophilized	Solution (5000 U/mL)
Storage of packaged product	-5 °C or 2 °C-8 °C	2 °C-8 °C	Room temperature	2 °C-8 °C
Storage once reconstituted	2 °C-8 °C for 24 h	2 °C-8 °C for several hours	2 °C-8 °C for 24 h	For a few hours
Approximate total protein content (ng/vial)	5.0 (100 U vial)	5.0 (500 U vial)	0.6 (100 U vial)	50 (5000 U vial)
Antigenic protein load (ng/vial)	0.8 (100 U vial)	Unknown	0.6 (100 U vial)	10.7 (5000 U vial)

Figure 48 : Comparaison des différentes formulations à base de toxine botulique. (65)

Les dosages de chaque préparation sont exprimés en Unités U. Une unité U est égale à la DL<sub>50</sub> souris soit la quantité de toxine injectée à des souris par voie intrapéritonéale capable de tuer 50% de l'effectif.

Elle est déterminée par le fabricant et dépend de différents paramètres (méthode, diluant utilisé...). Il est donc important de noter que les doses sont spécifiques et ne sont pas interchangeables d'une préparation à une autre (65).

### C. Mécanisme d'action

La toxine botulique appartient à la classe pharmaceutique des « autres myorelaxants à effet périphérique ».

Elle exerce son action en bloquant la libération d'acétylcholine dans la jonction neuromusculaire ce qui provoque un affaiblissement temporaire de l'activité des muscles voire une paralysie à l'origine de l'effet myorelaxant.

Elle provoque une diminution mesurable des potentiels d'action musculaire.

Le mécanisme d'action se déroule en 4 étapes principales :

1. Liaison : la chaîne lourde de la neurotoxine botulinique se fixe avec une sélectivité et une affinité exceptionnellement forte aux récepteurs cholinergiques.
2. Internalisation : invagination de la membrane nerveuse terminale et encapsulation de la toxine dans la terminaison nerveuse (endocytose).
3. Translocation : la fonction amine terminale de la chaîne lourde de la neurotoxine forme un pore dans la membrane de la vésicule ; le pont disulfure est rompu et la chaîne légère de la neurotoxine passe à travers ce pore dans le cytosol.
4. Inhibition : lorsque la chaîne légère est libérée, elle clive de façon très sélective une protéine cible qui est indispensable à la libération d'acétylcholine.

Il est à noter que l'effet de la toxine botulique n'est que transitoire. En effet, le rétablissement complet de la fonction motrice/conduction nerveuse intervient normalement en l'espace de 3 à 4 mois, lorsque les terminaisons nerveuses se régénèrent et rétablissent leurs connexions avec la plaque motrice.

De plus, un intervalle de 3 mois entre chaque injection doit être respecté quel que soit l'indication (61,62,63,64).

### D. Indications

Botox<sup>®</sup>, Dysport<sup>®</sup>, Xeomin<sup>®</sup> et Neurobloc<sup>®</sup> possèdent chacun des indications différentes. Celles-ci sont récapitulées dans le tableau présenté ci-dessous.

<b>Indications</b>	<b>Botox®</b>	<b>Dysport®</b>	<b>Xeomin®</b>	<b>Neurobloc®</b>
Troubles de l'oculomotricité	X			
Blépharospasme	X	X	X	
Spasmes hémifaciaux	X	X		
Hyperhidrose axillaire	X			
Dystonie cervicale	X	X	X	X
Spasticité des membres inférieurs et supérieurs	X	X	X	
Dysfonctions vésicales	X			

Figure 49 : Indications des différentes préparations de toxine botulique (61,62,63,64)

### 1. Troubles de l'oculomotricité / strabisme (à partir de 12 ans)

Seul le Botox possède une autorisation dans le traitement du strabisme. La dose injectée doit être comprise entre 1,25 unités et 5 unités en fonction du type de strabisme et elle doit être injectée dans les muscles extra-oculaires à l'aide d'un guidage électromyographique.

Une administration préalable de quelques gouttes d'anesthésiques locaux et de décongestionnant oculaires peut être réalisée (61).

Une correction du strabisme est observée 1 à 2 jours suivant l'injection et dure jusqu'à 6 semaines.

### 2. Blépharospasme (à partir de 12 ans)

Le blépharospasme est une dystonie (contraction musculaire locale intense et involontaire) caractérisée par la fermeture involontaire de la paupière de façon intermittente à cause de contractions spasmodiques du muscle orbicularis oculi.

La toxine botulique doit être injectée par voie intramusculaire dans différents sites (1 à 7 possibles comme présentés sur la photo suivante) situés dans les muscles orbitaires de la paupière supérieure et inférieure et dans le muscle de l'arcade sourcilière :

- l'orbicularis oculi
- le corrugator
- le procerus

La dose à injecter varie en fonction des produits utilisés.

Les premiers effets apparaissent généralement entre le 3<sup>ème</sup> et le 4<sup>ème</sup> jour après l'injection et peuvent durer pendant 3 à 4 mois.

La répétition des injections est possible de façon infinie mais un intervalle de 3 mois minimum entre chaque injection doit être respecté (61,62).



Figure 50 : Sites d'injection de la toxine dans le traitement du blépharospasme (61,62)

### 3. Spasmes hémifaciaux (à partir de 12 ans)

Les spasmes hémifaciaux sont caractérisés par une contraction involontaire des muscles innervés par le nerf facial de façon unilatérale. Les contractions démarrent généralement au niveau de l'orbiculaire oculi et peuvent se propager à d'autres muscles du visage. Ceci a un impact sur l'apparence physique.

Une revue littéraire a analysé les publications datant de 1996 à 2012 avec des patients traités par Botox<sup>®</sup> ou Dysport<sup>®</sup>. Les résultats ont démontré une amélioration clinique 2 à 14 jours après l'injection (8 jours en moyenne) et un retour à une situation identique pré-injection en 15 semaines en moyenne.

L'efficacité du traitement était évaluée grâce à l'échelle visuelle analogue (VAS) qui est une évaluation subjective par le patient du degré d'amélioration des spasmes ; 0% étant une absence d'amélioration et 100% une absence de symptôme.

Le degré moyen d'amélioration a ainsi été estimé entre 73% et 96,9% chez 94,3% des patients (61,62,68).

### 4. Hyperhidrose axillaire (à partir de 12 ans)

L'hyperhidrose axillaire se définit comme une transpiration excessive visible au niveau des aisselles pendant au moins 6 mois sans cause apparente.

Cette pathologie, bien que bénigne, provoque des désagréments physiques et un impact sur la vie sociale des personnes qui en souffrent.

Une hyperstimulation des glandes sudoripares par les fibres nerveuses cholinergiques du système nerveux sympathique pourrait être à l'origine de l'hyperhidrose sans que son étiologie soit véritablement connue.

Suivant cette hypothèse, la toxine botulique, en bloquant temporairement la libération d'acétylcholine au niveau des terminaisons nerveuses innervant les glandes sudoripares, inhibe la transpiration.

Seul Botox® possède une indication dans le traitement de l'hyperhidrose axillaire. Le traitement consiste à injecter 50 unités de produit par voie intradermique à répartir sur plusieurs sites et cela pour chaque aisselle. Les effets sont rapides, une amélioration clinique est obtenue 1 semaine après l'injection.

Une étude multicentrique, en double aveugle, contrôlée par placebo a été réalisée chez 322 patients recevant des injections de Botox®. L'efficacité de la toxine était évaluée entre autres grâce au score Hyperhidrosis Disease Severity Scale (HDSS). C'est une échelle en 4 points sur laquelle le patient auto évalue sa tolérance à la transpiration par rapport aux activités quotidiennes.

Question: How would you rate the severity of your hyperhidrosis?	Score
My underarm sweating is never noticeable and never interferes with my daily activities.	1
My underarm sweating is tolerable but sometimes interferes with my daily activities.	2
My underarm sweating is barely tolerable and frequently interferes with my daily activities.	3
My underarm sweating is intolerable and always interferes with my daily activities.	4

Figure 51 : Hyperhidrosis Disease Severity Scale (HDSS) (69).

Le taux de répondeurs au traitement défini comme présentant une amélioration d'au moins 2 points sur l'échelle HDSS était de 75% à la 4<sup>ème</sup> semaine après l'injection sachant que les patients enrôlés dans l'étude présentaient à la base un score de 3 ou 4.

Un second critère d'évaluation consistait à mesurer la production de sueur. Celle-ci était diminuée d'au moins 75% chez environ 80% des patients.

De plus, la durée moyenne de l'effet après une injection a été évaluée à environ 7 mois et demi.

Par ailleurs, une autre étude a évalué que pour 27,5% des patients testés, l'effet pouvait durer jusqu'à 1 an après l'injection.

Une troisième étude clinique, multicentrique en double aveugle, réalisée sur 320 patients a montré que le taux de répondeurs au traitement basé sur la diminution de la production de sueur d'au moins 50% par rapport à la valeur initiale 4 semaines après une injection de toxine botulique était de 93,8%.

Dans cette étude, l'effet cumulatif à plus long terme de la toxine botulique a également été évalué chez 174 patients qui ont été suivis pendant 16 mois et ont reçu 3 nouvelles injections. Le taux de répondeurs à la 16<sup>ème</sup> semaine après la première injection, la deuxième et la troisième était respectivement de 85%, 86,2% et 80%. Ainsi, il n'a pas été démontré de perte d'activité avec une utilisation répétée de la toxine.

La toxine botulique a ainsi prouvé son efficacité dans la réduction de la sévérité de l'hyperhidrose et sur la production de la sueur et permet donc une amélioration de la qualité de vie des patients (61,69).

## 5. Dystonie cervicale (à partir de 12 ans)

La dystonie cervicale est caractérisée par une contraction involontaire soutenue associée ou non à une torsion des muscles cervicaux provoquant une posture anormale et des mouvements répétitifs du cou. La douleur et l'impact sur la réalisation de tâches quotidiennes est le symptôme le plus gênant dont se plaignent les patients atteints de dystonie.

Les injections de toxine botulique peuvent être réalisées dans plusieurs muscles en fonction de la localisation de la douleur, l'hypertrophie du muscle et le poids de la personne.

Parmi les muscles concernés, il y a de façon non exhaustive :

- le muscle sterno-cléido-mastoïdien
- les releveurs de l'omoplate
- le muscle scalène
- le muscle splénius de la tête
- le grand complexus
- le transversaire du cou
- le trapèze

La toxine botulique va provoquer une relaxation du tonus musculaire et diminuer la force de contraction du muscle.

Les études démontrent que la toxine botulique permet :

- une libération de la douleur
- une augmentation de l'amplitude des mouvements libres
- une amélioration de la posture au repos

Une amélioration clinique est observée à partir de la 2<sup>ème</sup> semaine post-injection et la durée des effets bénéfique peut aller, selon les études cliniques, de 2 à 33 semaines avec une moyenne autour de 12 à 16 semaines.

La réponse thérapeutique après injection de toxine botulique est évaluée grâce à l'échelle de mesure TWSTRS (Toronto Western Spasmodic Torticollis Rating Score). La sévérité, la douleur et l'invalidité sont mesurées via 3 sous-échelle et l'addition de ces résultats va donner un score total TWSTRS allant de 0 à 85.

Une étude randomisée, en double aveugle, contrôlée par placebo a montré que Dysport entraînait une amélioration significative à 4 semaine post injection de la valeur du TWSTRS total score et que l'amélioration était significativement maintenue lors des injections ultérieures (les patients ayant reçu au maximum 4 injections).

Des résultats identiques ont été obtenus lors d'une étude similaire sur le traitement de la dystonie cervicale par Xeomin (61,62,63,70,71).

## 6. Spasticité des membres inférieurs et/ou supérieurs (à partir de 2 ans)

La spasticité est provoquée par une augmentation du réflexe d'étirement entraînant une contraction musculaire réflexe exagérée responsable d'une hypertonie.

Elle peut survenir à la suite d'un AVC, d'un traumatisme crânien, d'une blessure médullaire, de sclérose diverses...

Elle peut concerner les membres inférieurs et/ou supérieurs. Ainsi, plusieurs muscles peuvent être touchés.

Les injections de toxine botulique sont donc à répartir en fonction de la sévérité de l'atteinte, de la taille et du nombre de muscles touchés (par exemple : biceps, fléchisseurs communs profonds des doigts, grand palmaire, adducteur du pouce, ischio-jambiers).

L'amélioration de l'hypertonie musculaire apparait en moyenne 2 semaines après l'injection.

Son effet optimum peut être observé pendant 3 à 4 mois.

Les études cliniques mesurant l'efficacité de la toxine botulique se base sur l'amélioration du score d'Ashworth. L'échelle d'Ashworth consiste à réaliser un étirement passif du muscle évalué et à coter l'importance de la réponse de 0 à 4 ; 0 correspondant à une absence d'augmentation du tonus musculaire et 4 à une contracture permanente.

Les études cliniques d'efficacité des toxines botuliques dans le traitement de la spasticité des membres supérieurs ou inférieurs démontrent une réduction du tonus musculaire en se basant sur les résultats du score d'Ashworth.

Une amélioration de l'amplitude de mouvement a également été mise en évidence.

Cependant, le traitement de la spasticité doit s'inscrire dans une prise en charge pluridisciplinaire. Ainsi, pour permettre une amélioration des symptômes, le traitement par la toxine botulique doit être associé à des mesures de prise en charge complémentaires notamment de type neurostimulation et kinésithérapie (61,62,64).

## 7. Dysfonctions vésicales chez l'adulte

La toxine botulique possède des indications dans les problèmes d'hyperactivité vésicale qui sont caractérisés par des contractions vésicales anormales responsables de fuites urinaires. Les symptômes qui en découlent et particulièrement l'incontinence urinaire ont un impact très important sur la qualité de vie des patients.

Les indications précises de la toxine botulique données dans le Vidal sont les suivantes :

- traitement de l'hyperactivité vésicale idiopathique associée à des symptômes incluant :
  - 3 épisodes d'incontinence urinaire avec urgenturie sur 3 jours, et
  - fréquence urinaire définie par un nombre de mictions  $\geq 8$  par jour et ne répondant pas de manière adéquate aux anticholinergiques (après 3 mois de traitement) ou intolérants au traitement anticholinergique et ne répondant pas à une kinésithérapie bien conduite.
- traitement de l'hyperactivité détrusorienne neurologique conduisant à une incontinence urinaire non contrôlée par un traitement anticholinergique chez :
  - les patients blessés médullaires,
  - les patients atteints de sclérose en plaques.

Les injections sont réalisées dans le détrusor et la dose est répartie en plusieurs sites d'injection comme présenté sur le schéma ci-dessous.

Les injections sont effectuées après instillation d'anesthésique local dans la vessie puis drainage ou sous anesthésie générale.

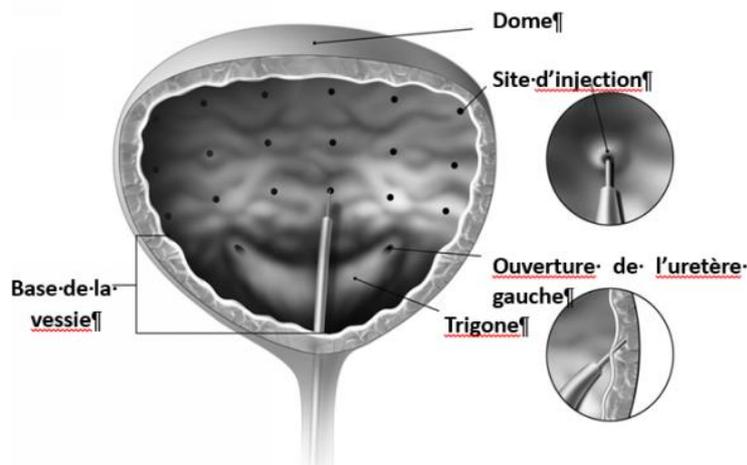


Figure 52 : Sites d'injections de la toxine botulique au niveau de détrusor (61).

Une amélioration des symptômes est visible à partir de 2 semaines après l'injection. La durée moyenne des effets se situe entre 24 et 36 semaines en fonction des indications.

Dans une étude clinique de phase III randomisée en double aveugle, multicentrique, contrôlée versus placebo réalisée sur 24 semaines chez 1 105 patients présentant une hyperactivité vésicale idiopathique avec comme symptômes incontinence, pollakiurie et urgenturie et dont la réponse aux traitements anticholinergiques habituels était insuffisante a montré les résultats suivants :

- une amélioration significative des symptômes de pollakiurie, fréquence quotidienne des mictions, urgenturie et nycturie à 12 semaines après l'injection.

- la durée médiane du traitement de 166 jours (24 semaines) à 212 jours (30 semaines) en fonction des doses.

Dans le cas de l'hyperactivité vésicale neurologique, deux études de phase III en double aveugle, contrôlée versus placebo incluant respectivement 691 patients et 144 patients atteints de sclérose en plaque ou de lésions médullaires ont démontré une amélioration significative par rapport au placebo de la fréquence hebdomadaire des épisodes d'incontinence urinaire à 6 semaines après l'injection. La durée moyenne des effets a été évaluée respectivement à 253 jours pour une dose de 200 unités de Botox® et à 362 jours pour une dose de 100 unités.

Dans de nombreuses études, en moyenne environ 60% des patients reportent une réponse positive au traitement avec une amélioration de la fréquence des épisodes d'incontinence urinaire et une amélioration de la qualité de vie.

Ainsi, la toxine botulique peut être considérée comme une alternative pour les patients non répondants aux traitements anticholinergiques de première intention, traitements qui présentent des nombreux problèmes d'efficacité et de tolérance (61,72,73).

Sur ce même principe, la toxine botulique est à l'essai dans le traitement de l'incontinence fécale causée entre autres par des problèmes de contraction des sphincters de l'anus. Une première étude réalisée sur 6 patients a montré des résultats positifs aux injections intra rectale de toxine botulique (89).

## E. Effets indésirables

Les études cliniques s'accordent sur le fait que la toxine botulique utilisée dans un cadre thérapeutique possède un profil de sécurité fiable. La majorité des effets indésirables recensés lors de ces études étaient de faible intensité et transitoire.

Cependant, quelques rare cas de dysphagie, pneumonie, asthénie, faiblesse musculaire excessive d'intensité plus importante peuvent être rencontrés. Si le patient présente des troubles de la déglutition, de l'élocution ou des difficultés respiratoires, une consultation médicale devra rapidement s'imposer.

### 1. Communs à toutes les indications

Des effets indésirables locaux peuvent être observés au niveau des sites d'injection et sont liés à la technique d'injection en elle-même :

- oedème
- inflammation
- paresthésie
- érythème
- ecchymose (61,62,63,64).

## 2. Effets indésirables par indications

### a) **Blépharospasme / Spasme hémifacial**

Dans le traitement du blépharospasme, un ptôsis, une kératite, une irritation associée à des yeux secs, une photophobie, un larmolement, une diplopie ainsi qu'une faiblesse des muscles du visage sont fréquemment rencontrés (61,62,64,68).

### b) **Dystonie cervicale**

Les effets indésirables très fréquents lors d'un traitement d'une dystonie cervicale par toxine botulique sont une dysphagie, des douleurs musculosquelettiques ainsi qu'une faiblesse ou raideur des cervicales.

La dysphagie est un effet indésirable potentiellement rencontré dans toutes les indications mais son incidence est plus importante lors d'un traitement pour dystonie (entre 6 et 26% selon les études et les médicaments). Dysport® semblerait être associé à un taux de dysphagie plus important. En effet, dans une étude de plusieurs publications, le taux de dysphagie calculé avec un traitement par Botox®, Neurobloc® et Dysport® était respectivement de 9,9%, 19% et 26,8%.

Une rhinite, des vertiges, des céphalées ainsi qu'une sécheresse buccale peuvent également être rencontrés (61,62,63).

### c) **Spasticité**

L'utilisation de la toxine botulique dans le traitement de la spasticité peut être à l'origine d'une hypertonie, de douleurs dans les muscles traités, de chutes et d'ecchymose (61,62,64).

### d) **Hyperhidrose**

Dans le traitement de l'hyperhidrose axillaire, les effets indésirables les plus fréquemment rencontrés sont des céphalées, des bouffées de chaleur, une hyperhidrose non axillaire (qui disparaît chez 30% des patients qui en souffrent dans les 4 mois) et des douleurs dans les extrémités (61).

### e) **Hyperactivité vésicale**

Lors du traitement des dysfonctionnements vésicaux par la toxine botulique, un des effets indésirables potentiel majeur est la rétention urinaire.

Ainsi, pour pouvoir bénéficier de ce traitement, les patients doivent accepter et être en mesure de pratiquer des auto-sondages.

Des études ont démontré que l'auto-sondage était initié chez 15,2% des patients traités à la dose de 100 unités de Botox® et chez 31,4% des patients traités à la dose de 200 unités de Botox®.

Des infections du tractus urinaire non compliquées peuvent également survenir (61).

### 3. Formation d'anticorps

La formation d'anticorps antitoxine botulique est un effet indésirable qui peut survenir et être à l'origine d'un échec thérapeutique en bloquant l'activité de la toxine. Ces anticorps sont alors appelés anticorps neutralisants. Sur le plan clinique, la formation d'anticorps neutralisants est susceptible de diminuer l'efficacité des traitements ultérieurs.

Cependant, ce risque s'avère être relativement faible et son incidence est difficilement évaluable (66).

Par exemple, dans une étude clinique de phase III, le développement d'anticorps neutralisant a été testé lors de l'évaluation d'injection de Botox® à différents dosages dans le traitement de l'hyperactivité vésicale idiopathique.

Sur les 954 patients ayant reçu une dose de 100 unités de Botox®, aucun n'a développé d'anticorps neutralisant. En revanche, sur les 260 patients traités à la dose de 150 unités de Botox®, 3 ont développé des anticorps neutralisants dont 1 a gardé des bénéfices cliniques du traitement (73).

Lors des études de développement de Botox® dans l'hyperactivité vésicale d'origine neurologique, 5 patients sur les 258 patients traités avec 200 unités ont été testés positifs aux anticorps neutralisants et 3 patients traités avec 300 unités l'ont été (72).

Plusieurs études évoquent que des injections à intervalles trop rapprochés ou à doses trop élevées sont un facteur de risque de formation d'anticorps neutralisant la toxine botulinique. Ainsi, les traitements doivent toujours être initiés à la dose thérapeutique la plus faible (66).

De plus, d'autres études suggèrent que le risque de développement des anticorps n'est pas identique pour toutes les préparations et l'utilisation de Neurobloc® serait à l'origine d'un risque de formation d'anticorps plus important.

Lors d'une étude clinique réalisée sur 468 patients traités pour une dystonie cervicale avec des injections de Neurobloc®, le taux de patients développant des anticorps antitoxine B était de 9,6% après 1 an 18,2% après 18 mois et 22,6% après 610 jours de traitement.

D'autres études ont démontré que le taux de séroconversion avec la toxine B pouvait atteindre jusque 44% des patients traités avec la toxine B en fonction des méthodes de détection utilisées (66).

En revanche, lors de l'utilisation de préparations à base de toxine A, la formation d'anticorps antitoxine A a été évaluée entre 0 et 3% (65).

Une étude suggère que cette différence pourrait être expliquée par la différence d'antigénicité des préparations. Cette antigénicité dépend de l'activité biologique spécifique définie comme la relation entre l'activité biologique et la quantité de neurotoxine contenue dans la préparation. Ainsi, une faible antigénicité implique une activité biologique importante associée à une faible charge protéique. Or pendant le processus de fabrication des préparations, une certaine quantité de toxine peut être inactivée. Ces toxines ne seront plus en mesure d'exercer une activité thérapeutique mais pourront toujours agir comme antigène. Cela implique que la quantité de toxine afin d'assurer l'effet thérapeutique sera plus importante.

Cette étude a ainsi mis en évidence que Neurobloc<sup>®</sup> avait une activité biologique spécifique beaucoup plus faible que Botox<sup>®</sup> ou Dysport<sup>®</sup> et donc un risque d'entraîner le développement d'anticorps antitoxine plus élevé ce qui corrobore les données cliniques observées (66).

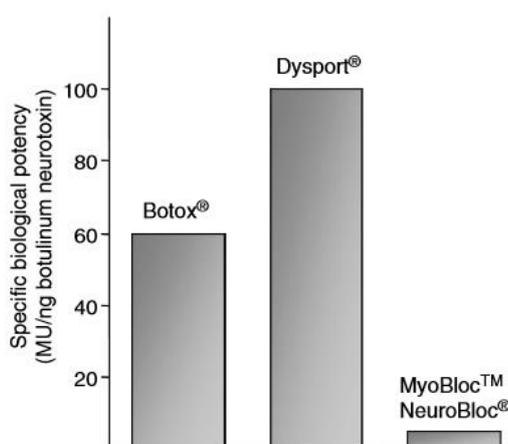


Figure 53 : Activité biologique spécifique des différents préparations de toxine botulique (66).

Une deuxième étude explique que l'origine des immunogénicités différentes serait due à une quantité d'impuretés différentes selon les préparations. Lors du processus de fabrication des préparations à base de toxine A, celles-ci sont entaillées à 95% par des protéases bactériennes endogènes avant d'être libérées par *Clostridium botulinum*. Alors que les toxines B sont entaillées de façon moins importante et à la fin du processus de fabrication, il reste encore 25 à 30% de produit inactif dans l'ampoule (65).

Par ailleurs, la formation d'anticorps n'est pas obligatoirement synonyme de perte d'activité du traitement. Quelques études font état de patients développant des anticorps antitoxine botulique tout en restant répondeur à leur traitement.

#### F. Interactions médicamenteuses et contre-indications

Peu d'interactions avec d'autres médicaments sont documentées.

L'effet de la toxine peut néanmoins être potentialisé par certains médicaments pouvant provoquer des interférences dans la transmission neuromusculaire comme les aminosides, les curares, les anticholinestérasiques.

Par ailleurs, certaines pathologies contre-indiquent l'utilisation de la toxine botulique.

Il s'agit notamment de :

- la myasthénie grave
- le syndrome de Lambert Eaton
- la sclérose latérale amyotrophique

De même, des antécédents de troubles neuromusculaires, de dysphagie, de pneumopathie d'inhalation sont à prendre en compte avant une utilisation de la toxine (61,62,63,64).

### III. Utilisation cosmétique

#### A. Historique

L'utilisation de la toxine botulique dans le traitement des rides a été découverte par hasard par un couple de médecins, Jean et Alastair Carruthers, respectivement dermatologue et ophtalmologue. Ces derniers ont en effet constaté, alors qu'ils traitaient des patients pour des blépharospasmes avec la toxine botulique, une diminution de leurs rides mécaniques autrement appelées rides d'expression.

Ces rides apparaissent du fait de la contraction répétée des muscles du visage pour le rendre expressif et s'opposent aux rides statiques qui sont due à un relâchement des tissus et à la gravité. Ces deux médecins publient en 1990 les premières études sur l'utilisation de la toxine botulique en cosmétique.

Par la suite, l'autorisation de l'utilisation de la toxine botulique de type A a été approuvée pour la correction des rides pour la première fois aux Etats-Unis en 2002. Depuis, son utilisation est devenue une procédure commune (74).

#### B. Indications

En France, il existe 3 produits ayant une AMM pour le traitement des rides.

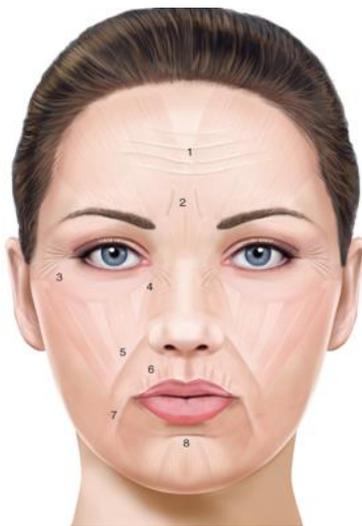
Il s'agit de :

- Azzalure®
- Bocouture®
- Vistabel®

Selon les Résumés des caractéristiques des Produits (RCP), ces spécialités sont indiquées dans la correction temporaire :

- des rides glabellaires modérées à sévères (rides verticales inter sourcilières) observées lors du froncement maximum des sourcils, et/ou,
- des rides canthales latérales (pattes d'oie) observées lors d'un sourire forcé,
- des rides horizontales du front modérées à sévères observées lors du haussement maximal des sourcils.

chez l'adulte de moins de 65 ans, lorsque la sévérité de ces rides entraîne un retentissement psychologique important chez le patient (75,76,77).



- 1 : rides horizontales du front
- 2 : rides glabellaires
- 3 : rides canthales latérales
- 4 : rides latérales du nez
- 5 : Sillon nasogénien
- 6 : Rides des lèvres
- 7 : Plis de l'amertume
- 8 : Rides du menton

Figure 54 : Différents types de rides au niveau du visage - seules les rides de types 1, 2 et 3 sont concernées par les injections de toxine botulique (79).

Ces médicaments sont réservés à un usage professionnel et ne peuvent pas être délivrés directement au patient. Leur prescription est réservée aux médecins spécialistes en :

- dermatologie
- ophtalmologie
- chirurgie plastique reconstructrice ou esthétique (75,76,77).

### C. Mécanisme d'action

Les effets attendus reposent sur la faiblesse musculaire locale causée par la toxine botulique. En effet, celle-ci entraîne une « dénervation chimique du muscle traité, conduisant à une diminution mesurable du potentiel d'action musculaire provoquant une diminution localisée voire une paralysie de l'activité musculaire ».

L'effet obtenu est cependant transitoire et les injections doivent être répétées dans le temps en raison de la régénérescence des terminaisons nerveuses au bout d'une douzaine de semaines. Toutefois, un délai minimum de 3 mois doit être respecté entre chaque intervention sachant que l'effet optimal du traitement peut être observé jusqu'à 4 mois.

Le délai médian d'apparition d'une réponse clinique est de 2 à 7 jours, l'effet maximal étant généralement obtenu entre le 14<sup>ème</sup> et le 30<sup>ème</sup> jour post-injection (75,76,77).

### D. Posologies

Les injections doivent obligatoirement être réalisées par voie intramusculaire.

Les posologies diffèrent en fonction des indications et des spécialités utilisées.

## 1. Rides glabellaires

Pour le traitement des rides glabellaires, la dose totale, comprise entre 20 et 50 unités en fonction des spécialités, est à répartir en 5 sites d'injection comme présentés sur la figure ci-dessous (75,76,77).



Figure 55 : Points d'injection recommandés pour le traitement des rides glabellaires (76).



A

B

C

Figure 56 : Photos avant/après injection de toxine botulique au niveau des rides glabellaires

A : Avant injection ; B : 4 jours post-injection ; C : 14 jours post-injection (79).

## 2. Rides canthales latérales

Pour le traitement des rides canthales latérales, la dose recommandée de 12 ou 30 unités, est à répartir en 3 sites d'injection par côté du visage (soit 24 à 60 unités en 6 sites d'injection pour la totalité du visage). Les injections doivent être réalisées selon la figure 2 ou 3 en fonction de la location des rides (75,76,77).

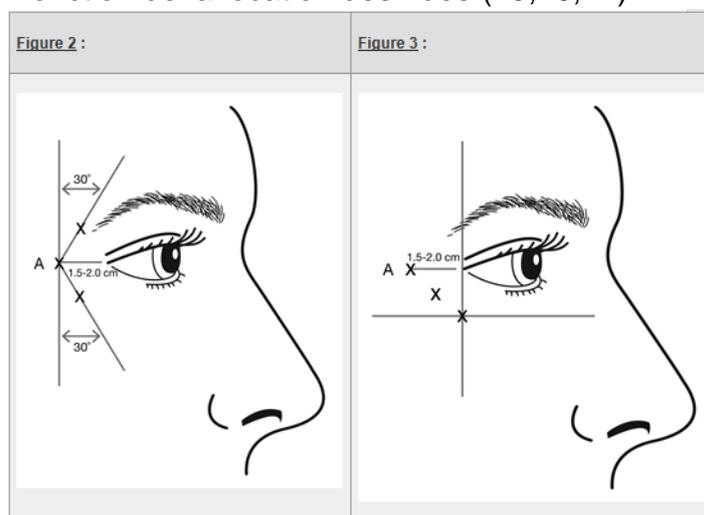


Figure 57 : Points d'injection recommandés pour le traitement des rides canthales latérales (76).

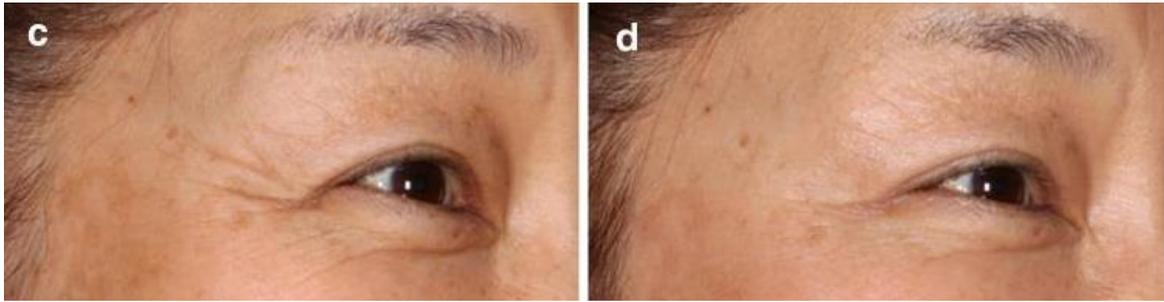


Figure 58 : Photo avant/après injection de toxine botulique au niveau des rides canthales latérales  
C : Avant injection ; D : 30 jours post-injection (80).

### 3. Rides horizontales du front

Pour le traitement des rides horizontales du front, les injections de 10 à 20 unités sont à répartir en 5 sites d'injections comme présentés sur la figure ci-dessous. (75,76,77)

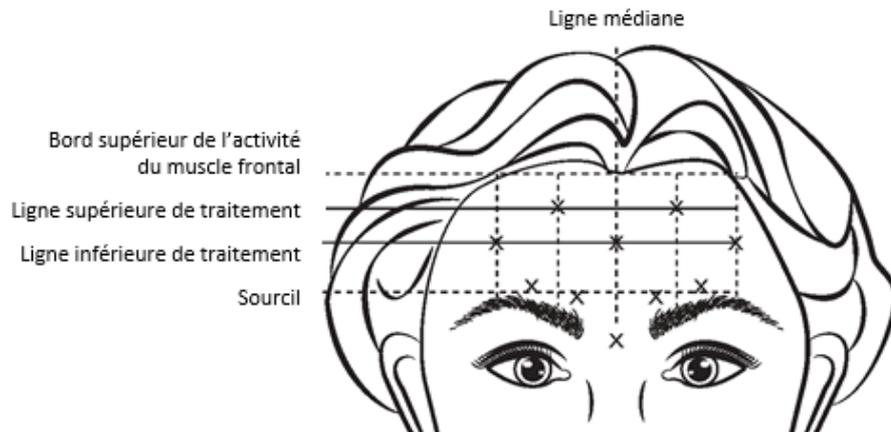


Figure 59 : Points d'injection recommandés pour le traitement des rides horizontales du front (76).

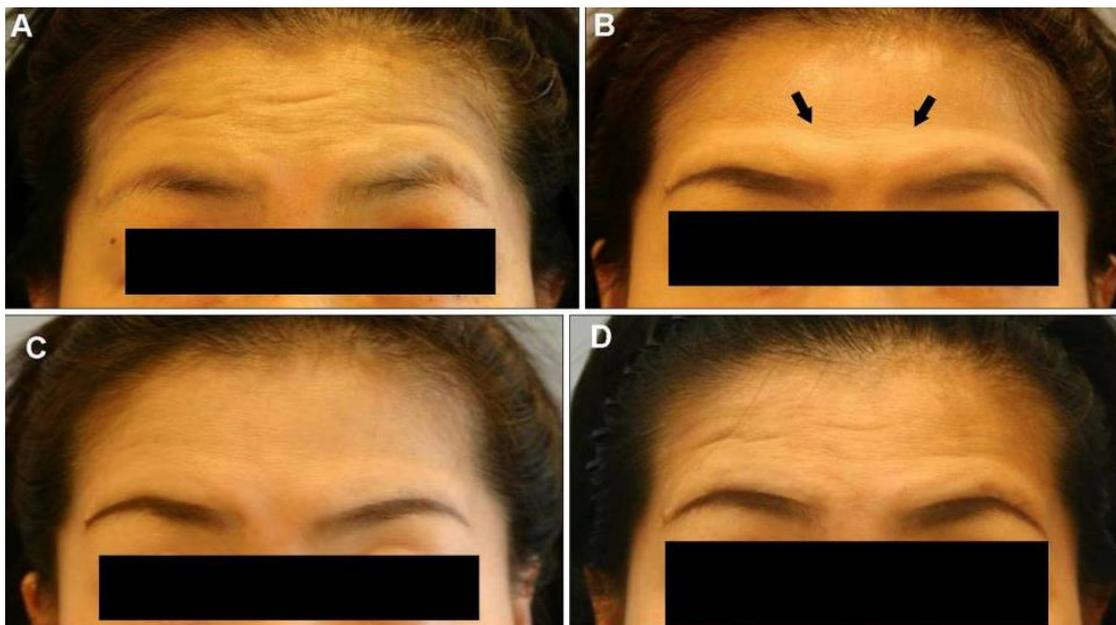


Figure 60 : Photo avant/après injection de toxine botulique au niveau des rides du front  
A : Avant injection ; B : 1 semaine post-injection ; C : 4 semaines post-injection ; D : 16 semaines post-injection (81).

## E. Efficacité du traitement

L'efficacité du traitement est mesurée grâce à l'évaluation de la satisfaction du patient à la suite de son traitement.

Dans la plupart des études, la satisfaction est basée sur :

- les résultats esthétiques positifs
- l'aspect naturel
- le regard reposé
- la perception de soi plus positive
- ...

Une étude de 2008 regroupant 23 études cliniques incluant au total 1 500 patients a rapporté que le taux de satisfaction des patients était compris entre 60% et 90% en fonction de la zone traitée et de la dose administrée. Une amélioration de l'auto-perception des patients a également été observée ainsi qu'une réduction de l'âge perçu par rapport à l'âge réel d'environ 5 ans.

De plus, des études ont évalué le taux de satisfaction des patients après traitement à plus ou moins long terme.

Une étude regroupant 125 personnes a évalué que le taux de satisfaction des patients recevant des injections de toxines pour le traitement de leurs rides glabellaires était resté supérieur ou égal à 75% pendant les 120 premiers jours suivant les injections.

Dans une seconde étude réalisée en 2015 sur 525 patients, 94,7% et 89,6% des patients ont déclaré être satisfaits ou très satisfaits à respectivement 3 semaines et 4 mois post-injection.

Par ailleurs, 3 semaines après le traitement, 82% affirmaient apparaître reposé, 97,5% considéraient le résultat comme naturel et 75,9% se sentaient plus attirant.

Ainsi, dans une majorité des cas, les patients considèrent que le traitement leur a apporté estime et confiance en soi, harmonie et jeunesse (82).

## F. Effets indésirables

### 1. Effets indésirables principaux

La toxine botulique possède un profil de sécurité fiable et constitue un traitement bien toléré.

En général, les études cliniques démontrent que la majorité des effets indésirables apparaissent lors de la première semaine de traitement et sont légers et transitoires.

Les plus fréquemment recensés sont :

- des réactions aux sites d'injection de type douleurs, inflammation, œdème, hématome, érythème
- des céphalées
- des nausées
- une ptôse des paupières
- une sécheresse oculaire.

Une étude réalisée en 2014 sur 8 787 patients recevant des injections de toxine botulique de type A dans le cadre d'une utilisation cosmétique a confirmé ces résultats. Une blépharoptose était observée chez 2,5% des patients, une ptôse du sourcil chez 3,1%, des troubles oculaires chez 3% et un déséquilibre de la partie basse du visage avec asymétrie de la lèvre chez 6,9%.

Les maux de têtes peuvent apparaître indépendamment du site d'injection (75,76,77,82).

## 2. Effets indésirables sur le long terme

Aucun effet secondaire supplémentaire n'a été reporté sur le long terme.

Par exemple, une étude menée sur 1 415 patients ayant reçu plusieurs injections sur plus de 24 mois pour la correction de leurs rides glabellaires a montré l'absence de problèmes cumulatifs d'apparition d'effets indésirables.

Plusieurs études portant sur l'administration répétée de la toxine botulique concluent à l'efficacité et à la tolérance de ces injections multiples.

De plus, elles démontrent une incidence plus importante des effets indésirables au cours du premier cycle de traitement et leur diminution lors des cycles ultérieurs (75,76,77,82).

## 3. Risques d'effets indésirables systémiques

Des effets indésirables liés à la diffusion de la toxine à distance des sites d'injection sont très rare. Après une injection cosmétique de toxine botulique par voie intramusculaire, celle-ci ne doit pas se trouver en quantité mesurable dans le sang périphérique.

Il n'y a d'ailleurs pas de report aux autorités compétentes de cas de toxicité systémique avec l'utilisation de préparation de toxine botulique dans des conditions de sites d'injection et de dosage approuvés.

Toutefois, le patient doit être averti qu'en cas de troubles de la déglutition, d'élocution ou de problèmes respiratoires, un médecin devra être consulté dans les plus brefs délais (75,76,77).

#### 4. Développement d'anticorps antitoxine botulique

L'incidence de la formation d'anticorps neutralisant la toxine botulique dans le cadre d'une utilisation cosmétique n'est pas connue. Cela reste un phénomène très rare par rapport à une utilisation en thérapeutique et lorsque les doses sont injectées de façon répétée.

Dans la phase III des essais cliniques de développement de Azzalure<sup>®</sup>, aucun patient positif aux anticorps antitoxine botulique et recevant la toxine de façon répétée pendant plus de 1 an n'a été détecté.

Dans une autre étude de 1 554 patients testés, 5 patients ont développé une réponse positive aux tests de détection des anticorps antitoxine. Toutefois, ces patients sont restés répondeurs à leur traitement.

Cependant, quelques cas d'échecs thérapeutiques ont été rapportés à la suite de développement d'anticorps.

Cinq d'entre eux sont présentés dans le tableau ci-après (82).

Five Case Studies of Patients Developing Neutralizing Antibodies After Botulinum Toxin Type A Injection for Aesthetic Use<sup>49</sup>

Parameter	Patients receiving BoNT-A				
	1	2	3	4	5
Aesthetic indication	Upper face	Various sites over face	Hyperhidrosis	Various sites over face	Upper face
BoNT-A therapy	ONA No response so switched to ABO after 1 treatment	ABO for 13 months Declining response so switched to ONA for 3 months, then ABO for 4 weeks, then INCO after 9 months	3 treatments of ONA with declining duration of treatment effect (from 5 to 2-3 months) Switched to ABO (duration of effect 1.5 months)	ABO over period of 8 years	3 treatments of ABO over 2 years
Duration of treatment effect	3 months	~13 months	Declining from 5 months to 1.5 months	For first 3 years: 6-8 months Thereafter <3 months	Initially 6 months, then 2 months and then no response
Presence of neutralizing antibodies confirmed mouse phrenic nerve HDA	Yes (low positive)	Yes	Yes	Yes (high positive)	Yes (high positive)

ABO, abobotulinumtoxinA; HDA, hemidiaphragm assay; INCO, incobotulinumtoxinA; ONA, onabotulinumtoxinA.

Figure 61 : Tableau récapitulatif de 5 cas de patients ayant développés des anticorps anti-toxine botulique après injection de toxine botulique de type A (82).

Figure 62 : Tableau récapitulatif des différents médicaments à base de toxine botulique (61,62,63,64,74,75,76)

DCI	Nom commercial (date d'AMM)	Formes	Dosages	Indications	Remboursement
Toxine botulinique A	AZZALURE® 2009	Poudre pour solution injectable	10 U Speywood/0,05mL	Rides intersourcillières, Rides canthales latérales	NR
	BOCOUTURE® 2010	Poudre pour solution injectable	50UI	Rides intersourcillières, Rides canthales latérales, Rides horizontales du front	NR
	BOTOX® 2000	Poudre pour solution injectable	50 ; 100 ; 200 UI	Dysfonctionnement vésicale, Blépharospasmes, Spasmes hémifaciaux, Hyperhidrose axillaire, Spasticité des membres, Torticolis, Troubles de l'oculomotricité	
	DYSPOUR® 1994	Poudre pour solution injectable	300 ; 500 USpeywood	Blépharospasmes, Spasmes hémifaciaux, Spasticité des membres, Torticolis	
	VISTABEL® 2004	Poudre pour solution injectable	4 U/0,1mL	Rides intersourcillières Rides canthales latérales	NR
	XEOMIN® 2008	Poudre pour solution injectable	50 ;100 ; 200 U	Blépharospasmes, Spasticité des membres supérieurs, Torticolis	
Toxine botulinique B	NEUROBLOC® 2001	Solution injectable	5 000U/mL	Torticolis	

1 unité Speywood (U) = dose létale médiane (DL<sub>50</sub>) chez la souris par voie intrapéritonéale

Nb : Etant donné l'absence d'harmonisation des systèmes d'unité pour les différentes préparations de toxines botuliques commercialisées, les doses à administrer ne sont pas interchangeables entre spécialités.

## G. Perspectives d'utilisation

La toxine botulique a fait ses preuves en matière de correction de certains types de rides.

Mais diverses études démontrent un champ d'utilisation de la toxine botulique beaucoup plus vaste.

Des résultats encourageants sont obtenus dans diverses affections cutanées, entre autres dans :

- l'amélioration de l'apparence des cicatrices hypertrophiques et chéloïdes
- le processus de cicatrisation des plaies. La toxine botulique aurait un impact sur la formation du collagène.
- l'acné en diminuant la sécrétion de sébum et en réduisant la taille des pores
- la rosacée en agissant sur l'érythème et les rougeurs caractéristiques de cette pathologie
- le psoriasis
- de rares maladies de la peau

Par ailleurs, la toxine botulique semble montrer des effets positifs dans la prise en charge de différents types de douleurs. Elle est d'ailleurs autorisée aux Etats-Unis comme alternative dans le traitement de la migraine chronique.

De nouvelles recherches mettent en lumière un possible rôle de la toxine botulique dans la diminution des douleurs de causes diverses :

- douleurs neuropathiques chez le diabétique
- névralgie du trijumeau
- douleurs chroniques du dos et des épaules
- troubles articulaires temporomandibulaires
- douleurs d'arthrite ou liées à la sclérose en plaque (83).

Des effets prometteurs ont également été constatés dans certains troubles gastro-intestinaux liés à une hyperactivité des muscles lisses et des sphincters du tube digestif notamment dans le traitement de fissures anales ou de problèmes d'achalasia.

Des essais sont réalisés pour :

- certains types de dysphagie,
- gastroparésies,
- obésité,
- anisme
- dysfonctionnement du sphincter d'Oddi
- incontinence fécale (84,85).

De nouvelles voies d'administration, notamment la voie intradermique, sont également à l'essai.

Cependant, de nombreuses recherches et essais cliniques sont encore nécessaires avant de pouvoir conclure à une possible utilisation thérapeutique de la toxine botulique dans ces indications.

## H. Botulisme iatrogène

Le développement d'un tableau clinique complet de botulisme à la suite d'une injection de toxine botulique dans un cadre thérapeutique, connu sous le nom de botulisme iatrogène, peut en théorie être possible mais son expérience reste très limitée.

### 1. Premier cas de botulisme iatrogène confirmé aux USA

Le premier cas de botulisme iatrogène confirmé par les tests laboratoire a été diagnostiqué aux Etats-Unis en 2004.

Une jeune femme a été admise à l'hôpital deux jours après avoir reçu une injection de toxine A non autorisée. Celle-ci présentait des difficultés à avaler, une vision double, un ptôsis bilatéral, une quadriplégie flasque ainsi que des difficultés respiratoires qui ont conduit à son intubation lors de son admission à l'hôpital.

Des échantillons de plasma et de selles ont été collectés afin de détecter la toxine. Les résultats ont démontré une quantité très importante de toxine botulique de type A dans les échantillons de plasma (20 DL<sub>50</sub> souris/mL).

La patiente a reçu une ampoule d'antitoxine six jours après son admission à l'hôpital sans qu'aucune amélioration clinique n'ai pu être constatée. Les premiers signes de récupération n'ont été observés qu'à partir de la troisième semaine d'hospitalisation. Ceci peut être expliqué par le fait que la liaison de la toxine aux récepteurs situés au niveau de la jonction neuromusculaire se fait de façon irréversible, ainsi le traitement par antitoxine n'a aucun effet lorsque ces récepteurs sont déjà saturés. La récupération des fonctions ne se fait qu'après la régénérescence des nerfs en 5 à 12 semaines environ. L'hospitalisation de la patiente aura duré quinze semaines. Cependant, dix mois après sa sortie de l'hôpital, la patiente se plaignait de myalgies et d'une faiblesse musculaire résiduelle.

L'hypothèse émise pour expliquer ce cas de botulisme iatrogène est que l'injection locale de toxine botulique de type A à très haute concentration a causé sa propagation hématogène comme le suggère la présence de la toxine dans le sang. En effet, la solution de toxine utilisée était destinée à un usage de recherche et n'était pas homologuée pour un usage chez l'homme. Elle avait été obtenue par un ami médecin non licencié de la patiente. Cette solution de toxine fournie par ce même médecin a causé des cas de botulisme iatrogène chez 3 autres personnes dont le médecin qui avait fourni la toxine (86,87).

Les quatre cas sont récapitulés dans le tableau ci-dessous.

**Table 2.** Timing of Clinical Events and Levels of Circulating Toxin in 4 Botulism Case-Patients

Event	Case-Patient			
	1	2	3	4
Date injected with toxin	11/23/04 (PM)	NK	11/24/04 (AM)	11/24/04 (AM)
Date of first symptom onset	11/25/04 (AM)	11/25/04 (AM)	11/25/04 (AM)	11/25/04 (AM)
Date admitted to hospital	11/26/04	11/27/04	11/26/04	11/26/04
Date placed on ventilator	11/26/04	11/27/04	11/27/04	11/27/04
Date antitoxin requested	11/27/04	11/27/04	11/27/04	11/27/04
Serum collection date	11/27/04	NA	11/26/04	11/26/04
Serum toxin level, mLD <sub>50</sub> /mL	24	NA	12	24
Date antitoxin arrived	11/27/04	11/27/04	11/27/04	11/27/04
Date antitoxin administered	12/02/05	11/27/04	11/27/04	11/27/04
Date free of ventilator support	05/15/05*	01/10/05	01/02/05	01/02/05*
Total No. of days of ventilator support	171*	44	36	36*
Date of hospital discharge	3/9/05	01/27/05	01/06/05	01/06/05
Total No. of days in hospital	104	61	40	40

Abbreviations: mLD<sub>50</sub>, mouse median lethal dose; NA, not applicable; NK, not known.

\*Minimum estimate based on available clinical information.

Figure 62 : Tableau récapitulatif des 4 cas de botulisme iatrogène (86)

## 2. Autres exemples de botulisme iatrogène

### Cas 1 :

En Chine, une femme de 30 ans a été admise aux urgences car elle se plaignait d'une faiblesse musculaire qu'elle présentait depuis 3 jours associée à des problèmes d'articulation et d'étouffement depuis 6 jours. Un premier examen physique a mis en évidence les symptômes suivants : dysphonie, dysarthrie, ptosis, diplopie et faiblesse bilatérale des membres inférieurs et supérieurs.

Il s'est avéré que cette femme avait reçu une injection de 500 UI de toxine botulique A par voie intramusculaire au niveau des mollets 9 jours avant l'apparition des symptômes dans un salon de beauté à Taiwan.

Le diagnostic de botulisme iatrogène a été posé. Elle a par la suite reçu plusieurs injections d'antitoxine monovalente A par voie intraveineuse selon le schéma suivant : 2 doses de 10 000 UI à 12 heures d'intervalles qui ont permis une amélioration de la diplopie et des problèmes d'étouffement puis 2 doses supplémentaires à 24 heures d'intervalles soit au total 40 000 UI d'antitoxine de type A qui ont permis la disparition des autres symptômes.

### Cas 2 :

Deux semaines après le premier cas, une autre femme de 30 ans a été adressée au même hôpital que précédemment en raison d'une suspicion de botulisme iatrogène posé par un autre hôpital qui n'avait pas accès à un traitement par antitoxine. Elle présentait les symptômes suivants : diplopie, ptosis bilatéral, faiblesse musculaire des 4 membres, dysarthrie. L'interrogatoire de la patiente a montré qu'elle avait également reçu des injections de 400 UI de toxine botulique A dans le visage et les deux mollets à des fins cosmétiques dans une centre de beauté à Shenzhen (Chine). 3 doses de 10 000 UI d'antitoxine monovalente de type A lui ont été administrées toutes les 12 heures suivies de 2 doses supplémentaires quotidiennes soit un total de 50 000 UI d'antitoxine monovalente de type A en guise de traitement. Une amélioration clinique a été observée après l'administration de la 4<sup>ème</sup> dose. (87)

Dans les cas présentés ci-dessus, le botulisme iatrogène déclaré chez les patients résultait d'un mésusage de la toxine botulique. En effet, les doses et/ou les sites d'injection n'étaient pas appropriés. Une injection de toxine botulique dans les mollets dans le but de leur donner une apparence plus fine ne fait pas partie des indications recommandées.

# Conclusion

Le botulisme, en raison des conditions bien particulières de développement de *Clostridium botulinum* et de sa toxine, est une maladie rare mais potentiellement mortelle. Cependant de nos jours, la mortalité associée reste faible grâce à une prise en charge adaptée à l'hôpital via notamment une assistance respiratoire.

Certains animaux comme les oiseaux, les bovins et les chevaux peuvent également être atteints de botulisme. Mais de façon générale, les sérotypes de toxine botulique impliqués dans le botulisme chez l'homme et chez les animaux sont différents et le risque de transmission à l'homme notamment via la consommation des produits issus de ces animaux est considéré par les autorités comme faible.

Connue comme étant le poison le plus toxique au monde, la toxine botulique a fait l'objet par le passé de programmes de développement en tant qu'arme biologique par certains pays. Au Japon, des tentatives récentes d'attaques terroristes avec la toxine botulique ont été menées bien que celles-ci n'aient pas abouties.

Grâce à son action sur le système nerveux, la toxine botulique a trouvé de nombreuses indications dans le traitement de diverses pathologies résultant principalement de contractions involontaires des muscles (blépharospasme, spasticité, hyperactivité vésicale, hyperhidrose axillaire...).

Malgré sa dangerosité, son utilisation en thérapeutique et en cosmétique a fait ses preuves tant sur le plan de l'efficacité que de la sécurité d'emploi. Son utilisation dispose d'un certain recule, le premier produit à base de toxine botulique à visée thérapeutique ayant obtenu une Autorisation de Mise sur le Marché aux USA en 1989.

Les risques de développer des symptômes de botulisme dans le cadre d'une utilisation en thérapeutique ou cosmétique sont extrêmement faibles. Ils résultent principalement d'un mésusage de la toxine au niveau de sa dose ou de sa voie d'administration.

L'inconvénient majeur des injections de toxine botulique réside dans leur effet transitoire et la nécessité de leurs répétitions afin de maintenir un effet thérapeutique satisfaisant.

Les perspectives d'utilisation de la toxine botulique dans le domaine thérapeutique sont encore vastes. Des recherches et essais cliniques sont en cours à l'heure actuelle avec des résultats encourageants entre autres dans la prise en charge de la douleur, en gastro-entérologie et dans diverses affections cutanées.

## Bibliographie

1. Pellett S. Learning from the past: historical aspects of bacterial toxins as pharmaceuticals. *Curr Opin Microbiol.* 2012 Juin ; 15(3) : 292-299.
2. ANSES. Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments / *Clostridium botulinum*, *Clostridium neurotoxinogènes*. Jan 2011.
3. Horowitz BZ. Type E botulism. *Clin Toxicol*, Sept 2010 ;48(9):880-895.
4. Kwok-Ho Lam, Rongsheng Jin. Architecture of the botulinum neurotoxin complex: a molecular machine for protection and delivery. *Curr Opin Struc Biol.* April 2015; 31:89-95.
5. Tighe AP, Schiavo G. Botulinum neurotoxins : Mechanism of action. *Toxicon.* 2013 Juin;67:87-93.
6. Espelund M, Klaveness D. Botulism outbreaks in natural environments – an update. *Front Microbiol.* June 2014;5.
7. Peck M, Stringer S, Carter A. *Clostridium botulinum* in the post-genomic era. *Food Microbiol.* April 2011;28(2):183-191.
8. Brunt J, Carter A, Stringer A, Peck M. Identification of a novel botulinum neurotoxin gene cluster in *Enterococcus*. *FEBS Lett.* 2018 Jan;592(3):310-317.
9. Williamson C, Smith T, Foley B, Hill K, Keim P, Sahl J. Botulinum-neurotoxin-like sequences identified from an *Enterococcus* sp. genome assembly. *BioRxiv.* 2017 dec;
10. Zhang S, Lebreton F, Mansfield M, Gilmore M, Doxey A, Dong M. Identification of a Botulinum Neurotoxin-like Toxin in a Commensal Strain of *Enterococcus faecium*. *Cell Host Microbe*, 2018 Feb;23(2):169-176.
11. Nantel A, *Clostridium botulinum*. International Programme on Chemical Safety Poisons Information Monograph 858, WHO.
12. Paredes-Sabja D, Setlow P, Sarker M. Germination of spores of *Bacillales* and *Clostridiales* species : mechanisms and proteins involved. *Trends Microbiol*, Feb 2011;19(2).
13. Talukdar P, Olguin-Aranda V, Alnoman M, Paredes-Sabja D, Sarker M. Updates on the sporulation process in *Clostridium* species. *Res Microbiol.* 2015 May;166 (4):225-235.
14. Smith L. Botulism and vaccines for its prevention. 2009 Aout. *Vaccine*;27:33-39.

15. Afssa. Rapport sur le botulisme d'origine aviaire et bovine. Octobre 2002.
16. Sobel J. Botulism. Clin Infect Dis. 2005 Oct;41:1167-1173.
17. Filmlaid KA, Shen A. Diverse mechanisms regulate sporulation sigma factor activity in the Firmicutes. Curr Opin Microbiol. 2015 Apr;24:88-95.
18. Santé publique France. (Page consulté en Octobre 2017). Botulisme. [Internet]. <http://invs.santepubliquefrance.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-declaration-obligatoire/Botulisme/Qu-est-ce-que-le-botulisme>.
19. Tréhard H, Poujol I, Mazuet C, Blanc Q, Gillet Y, Rossignol F, Popoff M, Jourdan Da Silva N. A cluster of three cases of botulism due to Clostridium baratii type F, France, August 2015. Euro Surveill. 2016;21(4).
20. Anniballi F, Auricchio B, Fiore A, Lonati D, Locatelli CA, Lista F, Fillo S, Mandarino G, De Medici D. Botulism in Italy, 1986 to 2015. Euro Surveill. 2017;22(24).
21. Delbos V, Abgueguen P, Fanello S, renet O, Alquier P, Granry JC, Pichard E. Botulisme alimentaire, aspects épidémiologiques. Press Med, Mars 2005,34(6):455-459.
22. Carlier JP, Espié E, Popoff M. Le botulisme humain en France, 2003-2006. Bul Epidemiol Hebd, Juil 2007;(29-30):261-264.
23. Mazuet C, Bouvet P, King L, Popoff M. Le botulisme humain en France, 2007-2009. Bul Epidemiol Hebd. Fév 2011;(6):49-53.
24. Mazuet C, King IA, Bouvet P, legeay C, Sautereau J, Popoff Mr. Le botulisme humain en France, 2010-2012. Bull Epidémiol Hebd. 2014;(5):106-14.
25. Santé Publique France. (Page consultée en décembre 2017). Caractéristiques épidémiologiques du botulisme humain en 2013. [Internet]. <http://invs.santepubliquefrance.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Risques-infectieux-d-origine-alimentaire/Botulisme/Donnees-epidemiologiques/Caracteristiques-epidemiologiques-du-botulisme-humain-en-2013>.
26. Santé Publique France. (Page consultée en décembre 2017). Caractéristiques épidémiologiques du botulisme humain en 2014. [Internet]. <http://invs.santepubliquefrance.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Risques-infectieux-d-origine-alimentaire/Botulisme/Donnees-epidemiologiques/Caracteristiques-epidemiologiques-du-botulisme-humain-en-2014>.
27. Santé Publique France. (Page consultée en décembre 2017). Caractéristiques épidémiologiques du botulisme humain en 2015. [Internet].

<http://invs.santepubliquefrance.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Risques-infectieux-d-origine-alimentaire/Botulisme/Donnees-epidemiologiques/Caracteristiques-epidemiologiques-du-botulisme-humain-en-2015>.

28. Santé Publique France. (Page consultée en décembre 2017). Caractéristiques épidémiologiques du botulisme humain en 2016. [Internet]. <http://invs.santepubliquefrance.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Risques-infectieux-d-origine-alimentaire/Botulisme/Donnees-epidemiologiques/Caracteristiques-epidemiologiques-du-botulisme-humain-en-2016>.
29. Lindström M, Korkeala H. Laboratory Diagnostics of Botulism. *Clin Microbiol Rev*, Avr 2006;19(2):298-314.
30. King LA, Niskanen T, Junnikkala M et al. Botulism and hot-smoked whitefish: a family cluster of type E botulism in France, September 2009. *Euro Surveill*. 2009;14(45).
31. Hill SE, Iqbal R, Cadiz CL, Le J. Foodborne Botulism Treated with Heptavalent Botulism Antitoxin. *Ann Pharmacother*. 2013 Feb;47.
32. Institut Pasteur. (Page consulté octobre 2017). INFORMATIONS SUR LE BOTULISME HUMAIN. [Internet]. <https://www.pasteur.fr/fr/sante-publique/CNR/les-cnr/bacteries-anaerobies-botulisme/la-maladie-recommandations>.
33. CDC. (Page consultée en octobre 2017). Botulism. [Internet]. <https://www.cdc.gov/botulism/index.html>.
34. Hoarau G, Pelloux I, Gayot A et al. Two cases of type A infant botulism in Grenoble, France: no honey for infants. *Eur J Pediatr*. 2012;171:589-591.
35. Rosow L, Strober J. Infant Botulism : Review and Clinical Update. *Pediatr Neurol*, 2015 May;52(5):487-492.
36. Mazuet C, Yoon EJ, Boyer S et al. A penicillin and metronidazole resistant *Clostridium botulinum* strain responsable for an infant botulism case. *Clin Microbiol Infect*, Juil 2016;22(7):644e7-644e12.
37. King LA, Popoff MR, Mazuet C et al. Le botulisme infantile en France, 1991-2009. *Arch Pediatr*, Sep 2010;17(9):1288-1292.
38. Godart V, Dan B, Mascart G, Fikri Y, Dierick K, Lepage P. Botulisme infantile après exposition à du miel. *Arch Pediatr*, 2014;21(6):628-63.
39. Koepke R, Sobel J, Arnon S. Global Occurrence of Infant Botulism, 1976-2006. *Pediatrics*. Juil 2008;122(1):73-82. [www.pediatrics.org/cgi/doi/10.1542/peds.2007-1827](http://www.pediatrics.org/cgi/doi/10.1542/peds.2007-1827).

40. Arnon S, Schechter R, Maslanka S, Jewell N, Hatheway C. Human Botulism Immune Globulin for the Treatment of Infant Botulism. *N Engl J Med.* 2006;354:462-471.
41. Brett M, Hallas G, Mpamugo O. Wound botulism in the UK and Ireland. *J Med Microbiol.* 2004;53:555-561.
42. European Centre for Disease Prevention and Control. (Page consultée en Janvier 2018) Wound botulism in people who inject heroin, Norway and the United Kingdom – Feb 2015. [Internet] <https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/RRA-Botulism-Norway-UK.pdf>.
43. Schulte M, Hamsen U, Schildhauer T, Ramczykowski T. Effective and rapid treatment of wound botulism, a case report. *BMC Surg.* 2017;17:103.
44. Werner SB, Passaro D, McGee J, Schechter R, Vugia DJ. Wound botulism in California, 1951-1998 : recent epidemic in heroin injectors. *Clin Infect Dis.* Oct 2000;31(4):1018-1024.
45. Rocke TE. 2006. The global importance of avian botulism, p 422–426. In Boere GC, Galbraith CA, Stroud DA (ed), *Waterbirds around the world*. The Stationery Office, Edinburgh, United Kingdom.
46. Anza I, Vidal D, Feliu J, Crespo E, Mateo R. 2016. Differences in the vulnerability of waterbird species to botulism outbreaks in Mediterranean wetlands: an assessment of ecological and physiological factors. *Appl Environ Microbiol* 82:3092–3099.
47. RéussirAviculture. (Page consulté en janvier 2018) Données du RNOA. Le nombre de cas de botulisme signalés a explosé en 2007. [Internet]. <https://www.reussir.fr/volailles/actualites/donnees-du-reseau-rnoa-le-nombre-de-cas-signales-de-botulisme-a-explose-en-2007:L1Q7QVUL.html>.
48. Réseau SAGIR, 2015, Surveillance sanitaire de la faune sauvage en France. Lettre n° 182. Ed. Office national de la chasse et de la faune sauvage, Paris, 9p.
49. Réseau SAGIR, 2013, Surveillance sanitaire de la faune sauvage en France. Lettre n° 177. Ed. Office national de la chasse et de la faune sauvage, Paris, 10p.
50. Briand P. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur un projet d'arrêté fixant des mesures techniques et administratives relatives à la lutte contre le botulisme aviaire. Afssa – Saisine n° 2008-SA- 0334. 14 janvier 2009.
51. Souillard R, Le Maréchal C, Ballan V, Mahé F, Chemaly M, Le Bouquina S. A bovine botulism outbreak associated with a suspected cross-contamination from a poultry farm. *Vet Microbiol.* Septembre 2017;208:212-216.

52. Souillard R, LeMaréchal C, Hollebecque F, Rouxel S, Barbé A, Houard E. Occurrence of *C. botulinum* in healthy cattle and their environment following poultry botulism outbreaks in mixed farms. *Vet Microbio*. Oct 2015;180:142-145.
53. Anses. ATU ULTRAVAC. ATU n° 90005.
54. Gerber V, Straub R, Frey J. Equine botulism and acute pasture myodystrophy: New soil-borne emerging diseases in Switzerland. Oct 2006;553-559.
55. NeogenVet. BotVax® B *Clostridium botulinum* Type B Toxoid. [Internet] <http://animalsafety.neogen.com/pdf/prodinfo/botvaxproductinfosheet.pdf>
56. Bossi P, Tegnell A, Baka A, Werner A, van Loock F, Hendriks J, Maidhof H, Gouvras G. Bichat guidelines for the clinical management of botulism and bioterrorism-related botulism. *Euro Surveill*. 2004;9(12):1-5.
57. Afssaps, Fiche thérapeutique n°8 « Toxine botulique » version 4, 24/10/2008.
58. Arnon SS, Schechter R, Inglesby TV, et al. Botulinum Toxin as a Biological Weapon Medical and Public Health Management. *JAMA*. 2001;285(8):1059–1070.
59. Villar R, Elliott S, Davenport K. Botulism : The Many Faces of Botulnum Toxin and its Potential for Bioterrorism. *Infect Dis Clin N Am*. Jun 2006;20(2):313-327.
60. Afssaps. Introduction, Fiche récapitulative, Version 5; 24/10/2008.
61. eVidal. (Page consultée en Mars 2018). Botox [Internet]. [https://evidal.vidal.fr/medicament/botox\\_100\\_u\\_allergan\\_pdre\\_p\\_sol\\_inj-2470.html](https://evidal.vidal.fr/medicament/botox_100_u_allergan_pdre_p_sol_inj-2470.html).
62. eVidal. (Page consultée en Mars 2018). Dysport [Internet]. [https://evidal.vidal.fr/medicament/dysport\\_300\\_u\\_speywood\\_pdre\\_p\\_sol\\_inj-100638.html](https://evidal.vidal.fr/medicament/dysport_300_u_speywood_pdre_p_sol_inj-100638.html).
63. eVidal. (Page consultée en Mars 2018). Neurobloc [Internet]. [https://evidal.vidal.fr/medicament/neurobloc\\_5000\\_u\\_ml\\_sol\\_inj-18275.html](https://evidal.vidal.fr/medicament/neurobloc_5000_u_ml_sol_inj-18275.html).
64. eVidal. (Page consultée en Mars 2018). Xeomin [Internet]. [https://evidal.vidal.fr/medicament/xeomin\\_100\\_u\\_pdre\\_p\\_sol\\_inj-84838.html](https://evidal.vidal.fr/medicament/xeomin_100_u_pdre_p_sol_inj-84838.html).
65. Bentivoglio A, Del Grande A, Petracca M, Lalongo T, Ricciardi L. Clinical differences between botulinum neurotoxin type A and B. *Toxicon*. Dec 2015;107:77-84.
66. Dressler D, Hallett M. Immunological aspects of Botox, Dysport and Myobloc/NeuroBloc. *Eur J Neurol*. 2006;13 Suppl 1:S11–15.
67. Chen S. Clinical uses of Botulinum Neurotoxins : Current Indications, Limitations and Future Developments. *Toxins*. 2012;4:913-939.

68. Sorgun MH, Yilmaz R, Akin YA, Mercan FN, Akbostanci MC. Botulinum toxin injections for the treatment of hemifacial spasm over 16 years. *J Clin Neurosci.* Aout 2015;22(8):1319-1325.
69. Lowe NJ, Glaser DA, Eadie N et al. Botulinum toxin type A in the treatment of primary axillary hyperhidrosis: a 52-week multicenter double-blind, randomized, placebo-controlled study of efficacy and safety. *J Am Acad Dermatol.* 2007;56(4):604-611.
70. Truong D, Brodsky M, Lew M et al. Long-term efficacy and safety of botulinum toxin type A (Dysport) in cervical dystonia. *Parkinsonism Relat Disord.* 2010 Jun;16(5):316-23.
71. Chapman MA, Barron R, Tanis DC, Gill CE, Charles PD. Comparison of botulinum neurotoxin preparations for the treatment of cervical dystonia. *Clin Ther.* Juil 2017;29(7):1325-1337.
72. Cruz F, Herschorn S, Aliotta P et al. Efficacy and safety of onabotulinumtoxinA in patients with urinary incontinence due to neurogenic detrusor overactivity: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Eur Urol.* Oct 2011;60(4):742-750.
73. Chapple C, Sievert KD, MacDiarmid S et al. OnabotulinumtoxinA 100 U significantly improves all idiopathic overactive bladder symptoms and quality of life in patients with overactive bladder and urinary incontinence: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Eur Urol.* Aout 2013;64(2):249-256.
74. Jaspers GWC, Pijpe J, Jansma J. The use of botulinum toxin type A in cosmetic facial procedures. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2011;40(2):127-133.
75. eVidal. (Page consulté en Mars 2018). Azzalure. [Internet] [https://evidal.vidal.fr/medicament/azzalure\\_10\\_u\\_speywood\\_0\\_05\\_ml\\_pdre\\_p\\_sol\\_inj-93069.html](https://evidal.vidal.fr/medicament/azzalure_10_u_speywood_0_05_ml_pdre_p_sol_inj-93069.html).
76. eVidal. (Page consulté en Mars 2018). Vistabel. [Internet] [https://evidal.vidal.fr/medicament/vistabel\\_4\\_u\\_allergan\\_0\\_1\\_ml\\_pdre\\_p\\_sol\\_inj-20234.html](https://evidal.vidal.fr/medicament/vistabel_4_u_allergan_0_1_ml_pdre_p_sol_inj-20234.html).
77. eVidal. (Page consulté en Mars 2018). Bocouture. [Internet] [https://evidal.vidal.fr/medicament/bocouture\\_100\\_u\\_pdre\\_p\\_sol\\_inj-177338.html](https://evidal.vidal.fr/medicament/bocouture_100_u_pdre_p_sol_inj-177338.html).
78. Small R. Botulinum Toxin Injection for Facial Wrinkles. *Am Fam Physician.* 2014 Aug;90(3):168-175.
79. Lim JTE, Loh D, Soh K, Sunga O. Efficacy and patient satisfaction with incobotulinumtoxinA for the treatment of glabellar frown lines. *Singapore Med J.* Oct 2017;58(10):606-609.

80. Harii K, Kawashima M, Furuyama N, Lei X, Hopfinger R, Lee E. OnabotulinumtoxinA (Botox) in the Treatment of Crow's Feet Lines in Japanese Subjects. *Aesthetic Plast Surg*. 2017;41(5):1186-1197.
81. Kang SM, Feneran A, Kim JK et al. Exaggeration of Wrinkles after Botulinum Toxin Injection for Forehead Horizontal Lines. *Ann Dermatol*. May 2011;23(2):217-221.
82. Cohen JL, Scuderi N. Safety and Patient Satisfaction of AbobotulinumtoxinA for Aesthetic Use: A Systematic Review. *Aesthet Surg J*. Mai 2017;(suppl 1):S32-S44.
83. Schlessinger J, Gilbert E, Cohen JL, Kaufman J. New Uses of AbobotulinumtoxinA in Aesthetics. *Aesthet Surg J*. Mai 2017;37(suppl1):S45-S58.
84. Brisinda G, Sivestrini N, Bianco G, Maria G. Treatment of Gastrointestinal Sphincters Spasms with Botulinum Toxin A. *Toxins*. 2015 Jun;7(6):1882-1916.
85. Bridoux V, Gourcerol G, Kianifard B et al. Botulinum A toxin as a treatment for overactive rectum with associated faecal incontinence. *Colorectal Dis*. 2012 Mar;14(3):342-8.
86. Chertow DS, Tan ET, Maslanka SE et al. Botulism in 4 Adults Following Cosmetic Injections With an Unlicensed, Highly Concentrated Botulinum Preparation. *JAMA*. Nov 2006;296(20):2476-2479.
87. N Souayah, Karim H, Kamin SS, McArdle J, Marcus S. Severe botulism after focal injection of botulinum toxin. *Neurology*. 2006;67(10):1855-1856.
88. Fan KL, Wang YL, Chu G, Leung LP. Delayed antitoxin treatment of two adult patients with botulism after cosmetic injection of botulinum type A toxin. *J Emerg Med*. 2006;51(6):677-679.
89. Benezech A, Bouvier M, Vitton V. Faecal incontinence: Current knowledges and perspectives. *World J Gastrointest Pathophysiol* 2016;7(1):59-71.



Faculté de Pharmacie de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX
03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64
http://pharmacie.univ-lille2.fr/

University of Lille logo and stamp: FACULTE DE PHARMACIE de Lille, Reçu le 29 MAI 2018

DEMANDE D'AUTORISATION DE SOUTENANCE

Nom et Prénom de l'étudiant : PERRIN Axelle INE : 0902044714H

Date, heure et lieu de soutenance :

Le 27 06 2018 à 18h15 Amphithéâtre ou salle : Cerve

Avis du conseiller (directeur) de thèse

Nom : NEUF Prénom : CHRISTEL

- Favorable
Défavorable

Motif de l'avis défavorable :

Date : 25/5/18
Signature: [Signature]

Avis du Président de Jury

Nom : NEUF Prénom : CHRISTEL

- Favorable
Défavorable

Motif de l'avis défavorable :

Date : 25/5/18
Signature: [Signature]

Décision de Monsieur le Doyen

- Favorable
Défavorable



NB : La faculté n'entend donner aucune approbation ou improbation aux opinions émises dans les thèses, qui doivent être regardées comme propres à leurs auteurs.

**Nom : Perrin**  
**Prénom : Axelle**

## **La toxine botulique : d'un agent infectieux mortel vers une utilisation pharmacologique.**

**Mots-clés** : Botulisme, toxine botulique, Botox, *Clostridium botulinum*, intoxication alimentaire, botulisme infantile, arme biologique

---

**Résumé** : Le botulisme, maladie rare mais potentiellement mortelle, est provoquée par la toxine botulique qui est une neurotoxine produite par la bactérie *Clostridium botulinum*. Elle est à l'origine d'une paralysie du système nerveux qui s'illustre par une paralysie flasque et progressive des muscles du visage, puis des membres voire des muscles respiratoires. Trois principales formes de botulisme sont décrites : le botulisme alimentaire, le botulisme infantile et le botulisme des plaies. Le traitement de la maladie est basé sur l'administration d'antitoxines associé à une prise en charge symptomatique (assistance respiratoire). La toxine botulique est également responsable de botulisme chez certains animaux comme les oiseaux, les bovins ou encore les chevaux.

Par ailleurs, la toxine botulique possède de nombreuses utilisations. Considérée comme la poison le plus toxique au monde, elle peut être utilisée à des fins malveillants comme arme biologique. Mais elle possède également des indications dans le traitement de pathologies humaines liées à des problèmes de dystonie ainsi qu'en cosmétique pour la correction de rides.

### **Membres du jury** :

**Président et Directeur, conseiller de thèse** : NEUT Christel, Maître de Conférences en Bactériologie-Virologie, Faculté de Pharmacie de Lille 2

**Assesseur** : BALDUYCK Malika, Maître de Conférences - Praticien Hospitalier, Laboratoire de biochimie, Faculté de Pharmacie de Lille 2

**Membre extérieur** : GENSOLLEN Sophie, Docteur en Pharmacie, Chef de service Pharmacie - Hôpital de la Conception, Marseille