

RAPPORTERING VOOR HET JAAR 2019

Referentiecentrum voor *Clostridium botulinum* en *Clostridium perfringens*

Coördinator Referentiecentrum

| | | |
|-----------------------|-------------------|--------------------------------------|
| Tom Van Nieuwenhuysen | Sciensano | 14, J. Wytsmanstraat 1050 Brussel |
| Tel : 02 642 57 80 | Fax: 02 642 56 92 | botulisme@sciensano.be |

1. Voornaamste bevindingen 2019

In 2019 werden serum- en/of fecesstalen van 19 patiënten geanalyseerd voor verdenking van humaan botulisme. Bij 1 patiënt hiervan kon botulisme bevestigd worden in het labo. Het ging hier om een geval van infantiel botulisme waarbij de oorzaak niet achterhaald kon worden.

Voor de analyse van *C. perfringens* werden dan weer 26 fecesstalen en 1 bacterieel isolaat doorgestuurd naar het NRC. Bij 2 collectieve voedseltoxi-infecties (cVTI) kon de enterotoxinogene *C. perfringens* als oorzaak aangeduid worden. Hierbij werden in totaal 35 mensen getroffen.

Zowel voor *C. botulinum* als voor *C. perfringens* was er geen opmerkelijke verandering in incidentie van de pathogeen waarneembaar ten opzichte van voorgaande jaren.

2. Overzicht van de activiteiten

Het NRC *C. botulinum* en *C. perfringens* beschikt over verschillende gevalideerde en geaccrediteerde methoden voor de labodiagnostiek van botulisme evenals voor de bevestiging van de oorzaak van voedseltoxi-infecties door *C. perfringens*. Bovendien is het NRC in staat de minimale inhibitorische concentratie (MIC) van een reeks antibiotica ten opzichte van geïsoleerde *C. perfringens* stammen te bepalen.

| Methoden <i>C. botulinum</i> | Methoden <i>C. perfringens</i> |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none">➤ Detectie van botulinum neurotoxine (BoNT) via de <i>in vivo</i> referentiemethode➤ Detectie van de BoNT-producerende kiem via de <i>in vivo</i> referentiemethode➤ Detectie van de BoNT-producerende kiem via qPCR | <ul style="list-style-type: none">➤ Telmethode en speciesbevestiging➤ Detectie van het enterotoxine via PET-RPLA➤ Detectie van de (enterotoxinogene) <i>C. perfringens</i>➤ Bepaling van het toxinotype via qPCR➤ Bepaling van de MIC van een reeks antibiotica |

2.1. ANALYSES VOOR CLOSTRIDIUM BOTULINUM

In 2019 werden in totaal 21 klinische stalen doorgestuurd naar het NRC voor de analyse van *C. botulinum* en botulinum toxine. Deze stalen waren afkomstig van 19 verschillende patiënten en werden genomen in het kader van verdenkingen van humaan botulisme. Van 2 patiënten werd zowel feces als serum ontvangen, van 2 patiënten enkel feces, en van 15 patiënten enkel serum. Dit resulteerde in totaal in de analyse van 17 serum- en 4 fecesstalen. Serumstalen worden typisch geanalyseerd voor de aanwezigheid van BoNT via de *in vivo* referentiemethode. In de stoelgangstalen wordt zowel naar BoNT (*in vivo* referentiemethode) als naar de BoNT-producerende kiem gezocht. Voor de detectie van de BoNT-producerende kiem wordt eerst een aanrijkingscultuur opgestart. Na incubatie volgt enerzijds de opsporing van het BoNT toxine via de *in vivo* referentie methode en anderzijds de detectie van BoNT-producerende genen via de qPCR methode.

- **Limburg, februari 2019**

In 2019 werd 1 geval van infantiel botulisme bevestigd in het labo. Het ging hier om een 3 maand oude baby die symptomen vertoonde als voedselweigering, ptosis en toenemende

hypotonie. Zowel een fecesstaal als een serumstaal werden naar het NRC opgestuurd. In het fecesstaal werd zowel het toxine (BoNT type B) als de kiem (*C. botulinum* type B) gedetecteerd. In het serum werd geen BoNT gedetecteerd. De baby consumeerde geen honing en er werden verder ook geen voedingsstalen en omgevingsstalen opgestuurd naar het labo.

2.2. ANALYSES VOOR CLOSTRIDIUM PERFRINGENS

In 2019 werden in totaal 27 humane stalen geanalyseerd voor *C. perfringens*. Het betrof 26 stoelgangstalen en 1 geïsoleerde bacteriële stam. De stalen waren voornamelijk afkomstig van patiënten met gastro-intestinale klachten. Sommige van deze stalen werden doorgestuurd door Zorg en Gezondheid Vlaanderen en AVIQ in het kader van een mogelijke voedseltoxiciteit. Bij andere patiënten was er sprake van niet-voedsel-gerelateerde infecties en waren de stalen doorgestuurd door klinische labo's.

In 2019 werden klinische stalen van 6 verschillende cVTI uitbraken geanalyseerd waarvan er 2 in verband konden gebracht worden met de enterotoxigene *C. perfringens*. Deze worden hieronder kort toegelicht.

- **Luik, maart 2019**

9 personen, die samen in een centrum verblijven, werden op hetzelfde moment ziek met diarree als voornaamste symptoom. Een stoelgangstaal werd opgestuurd waarin vervolgens het enterotoxine van *C. perfringens* gedetecteerd werd via de PET-RPLA analyse. De aanwezigheid van *C. perfringens* kon niet aangetoond worden in de voeding.

- **Waals-Brabant, december 2019**

Bij deze uitbraak werden 27 mensen in een rusthuis ziek en vertoonden symptomen als buikpijn en waterige diarree. In de 6 stoelgangstalen die opgestuurd werden, werd enterotoxigene *C. perfringens* gedetecteerd. De voedselstalen werden extern geanalyseerd maar hier werd helaas geen detectie van *C. perfringens* op uitgevoerd.

3. Epidemiologische karakteristieken

Het NRC *C. botulinum* en *C. perfringens* is belast met de diagnostiek, bevestiging en surveillance van humaan botulisme en infecties die veroorzaakt worden door *C. perfringens*.

3.1. CLOSTRIDIUM BOTULINUM

Volgens de gegevens van het NRC tijdens de voorbije 30 jaren, is humaan botulisme zeldzaam in België (zie Tabel 1). Sinds 1988 werden slechts 20 gevallen van humaan botulisme, gekoppeld aan voeding, bevestigd in België. Hierbij werden 17 gevallen bevestigd als type B botulisme en 1 geval als type A. Voor 2 gevallen kon zowel het type botulisme als de origine niet geïdentificeerd worden. Type B botulisme is het meest voorkomende type in België, net als in Frankrijk en Italië. Dit type wordt voornamelijk geassocieerd aan de consumptie van ham (10 gevallen), maar ook aan de consumptie van olijven (1 geval) of honing (1 geval).

Tabel 1 – Incidentie van humaan botulisme in België (1988-2019).

| Gegevens van het NRC <i>C. botulinum</i> en <i>C. perfringens</i> (Sciensano) | | | |
|---|-----------------|-----------------------|----------------------------------|
| Jaar | Aantal gevallen | Type betrokken toxine | Bron van de intoxicatie |
| 1988 | 0 | | |
| 1989 | 2 | B / B | Ham |
| 1990 | 1 | B | Ham |
| 1991 | 0 | | |
| 1992 | 1 | B | Ham |
| 1993 | 1 | ? | Ongekend |
| 1994 ^a | 1 | ? | Ongekend |
| 1995 | 0 | | |
| 1996 | 1 | A | Aardappelgerecht met uien en ham |
| 1997 | 3 | B / B / B | Ham |
| 1998 | 1 | B | Olijven |
| 1999 | 0 | | |
| 2000 | 0 | | |
| 2001 | 0 | | |
| 2002 | 0 | | |
| 2003 | 0 | | |
| 2004 | 1 | B | Ham |
| 2005 | 0 | | |
| 2006 | 0 | | |
| 2007 | 0 | | |
| 2008 | 1 | B | Ongekend |
| 2009 | 0 | | |
| 2010 | 0 | | |
| 2011 | 2 ^b | B / B | Ongekend en honing |

| | | | |
|------|---|----------------|---------------------------------------|
| 2012 | 0 | | |
| 2013 | 0 | | |
| 2014 | 1 | B | Niet bevestigd (carpaccio en lasagne) |
| 2015 | 2 | B / B | Ham |
| 2016 | 1 | B ^c | ongekend |
| 2017 | 0 | | |
| 2018 | 0 | | |
| 2019 | 1 | B ^c | Ongekend |

^a geval gemeld door de Franse gemeenschap;

^b waarvan 1 geval van infantiel botulisme (Godart et al., 2014);

^c infantiel botulisme

3.2. CLOSTRIDIUM PERFRINGENS

In het kader van het NRC is de surveillance van collectieve voedseltoxi-infecties (cVTI) gelinkt aan *C. perfringens* gestart in 2013 (Tabel 2). Een uitbraak van een *C. perfringens*-gerelateerde VTI leidt over het algemeen tot veel zieke personen. De bevestigde uitbraken met *C. perfringens* sinds 2013 zijn samengevat in tabel 2. In 2019 werden 2 uitbraken bevestigd met in totaal 35 zieken.

Tabel 2 – Gevallen van voedseltoxi-infecties door *C. perfringens* in België (2013-2019).

| Gegevens van het NRC <i>C. botulinum</i> en <i>C. perfringens</i> (Sciensano) | | | | |
|---|-----------------|-----------------|------------------|---------------------------------|
| Jaar (totaal VTI) | Provincie | Aantal gevallen | Bevestiging | Bron van de intoxicatie |
| 2013 (2) | Luxemburg | 70 | Humaan + voeding | TIAC/2013/LUX/001 : goulasch |
| | Limburg | 18 | Humaan | CVTI/2013/LIM/012 : ongekend |
| 2014 (1) | Luik | 17 | Voeding | TIAC/2014/LIE/010 : arancini |
| 2015 (0) | | | | |
| 2016 (4) | West-Vlaanderen | 200 | Humaan + voeding | CVTI/2016/WVL/001 : stoofvlees |
| | Oost-Vlaanderen | 26 | Humaan + voeding | CVTI/2016/OVL/006 : lasagne |
| | Namen | 30 | Humaan + voeding | TIAC/2016/NAM/004 : vol-au-vent |
| | Limburg | 46 | Humaan | CVTI/2016/LIM/004 : stoofvlees |
| 2017 (2) | West-Vlaanderen | 142 | Humaan + voeding | CVTI/2017/WVL/004 : gyros |
| | Oost-Vlaanderen | 40 | Humaan | CVTI/2017/OVL/005 : ongekend |
| 2018 (1) | Luik | 16 | Voeding | TIAC/2018/LIE/008 : vol-au-vent |
| 2019 (2) | Waals-Brabant | 27 | Humaan | TIAC/2019/BNA/001 : ongekend |
| | Luik | 9 | Humaan | TIAC/2019/LIE/011 : ongekend |

Naast de surveillance van voedseltoxi-infecties krijgt het NRC soms ook klinische stalen afkomstig van niet-voedsel-gerelateerde infecties toegestuurd. In 2014 werd in dit kader *C. perfringens* gedetecteerd en gekarakteriseerd in 2 post-operatieve wonden (Jonckheere et al., 2014). In 2018 werden dergelijke klinische stalen geanalyseerd, vooral voor een MIC bepaling

en moleculaire typering. In 2019 werden twee stoelgang stalen geanalyseerd in een niet-voedsel gerelateerde context. Een eerste van een patiënt met een zeldzame de-myelinisatie aandoening, waarvoor een link met het epsilon toxine van *C. perfringens* beschreven is. In dit staal werd geen *C. perfringens* teruggevonden door het NRC. Een tweede staal van een patiënt met chronische buikklachten. Hierin werd geen enterotoxinogene *C. perfringens* teruggevonden. Daarnaast werd in 2019 ook een toxinotype bepaald op een stam afkomstig uit een hemocultuur.

Betreffende de antibioticum resistentie, werd tot hiertoe voor geen enkel van de geanalyseerde stammen resistentie gedetecteerd ten opzichte van de relevante antibiotica opgenomen in de MIC test. De interpretatie 'sensibel' versus 'resistent' is gebaseerd op de klinische breekpunten die in 2017 vastgelegd werden door EUCAST voor Gram-positieve anaerobe bacteriën, inclusief *Clostridium* species (http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/).

4. Referenties

- V. Godart, B. Dan, G. Mascart, Y. Fikri, K. Dierick, P. Lepage. Botulisme infantile après exposition à du miel, Archives de Pédiatrie, 2014;21:628-631
- S. Jonckheere, A.M.A.I. Boel, T. De Beer, L. Delbrassinne, K.M.C. Van Vaerenbergh, H.R.I.W. De Beenhouwer, 2014. Postoperatieve wondinfecties met *Clostridium perfringens* na orthopedische chirurgie: twee casussen met aandacht voor epidemiologisch onderzoek / Surgical site infections caused by *Clostridium perfringens* after orthopedic surgery: two case reports with attention to epidemiologic investigation. Tijdschrift voor InfectieZiekten, 9(6):177-81.
- http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/