

# RAPPORTERING VOOR HET JAAR 2020

## Referentiecentrum voor *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens* en *Clostridium tetani*

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 2020

In 2020 werden 13 serum- en/of fecesstalen afkomstig van 10 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 artisanale honing de vermoedelijke oorzaak was.

Voor de analyse van *C. perfringens* werden dan weer 12 humane stalen doorgestuurd naar het NRC. Het betrof voornamelijk fecesstalen en bacteriële isolaten. Bovendien werden in 2020 6 voedingsisolaten ontvangen voor de analyse van *C. perfringens* in het kader van een voedseltoxi-infectie. Bij 1 collectieve voedseltoxi-infectie (cVTI) kon de enterotoxinogene *C. perfringens* als oorzaak aangeduid worden. Hierbij werden in totaal 21 mensen getroffen.

Verder werden ook 5 humane serumstalen ontvangen voor detectie van het tetanus toxine. In geen van deze stalen kon dit toxine gedetecteerd worden.

Zowel voor *C. botulinum*, *C. perfringens* als voor *C. tetani* waren er geen opmerkelijke veranderingen in incidentie van de pathogenen waarneembaar ten opzichte van voorgaande jaren.

## 2. Overzicht van de activiteiten

Het NRC *C. botulinum*, *C. perfringens* en *C. tetani* 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. Sinds dit jaar werd *C. tetani* ook toegevoegd aan de scope van de NRC. Het NRC is in staat het tetanus toxine te detecteren in serum.

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

### 2.1. ANALYSES VOOR CLOSTRIDIUM BOTULINUM

In 2020 werden in totaal 13 klinische stalen doorgestuurd naar het NRC voor de analyse van *C. botulinum* en botuline neurotoxine (BoNT). Deze stalen waren afkomstig van 10 verschillende patiënten en werden genomen in het kader van verdenkingen van humaan botulisme. Van 3 patiënten werd zowel feces als serum ontvangen en van 7 patiënten enkel serum. Dit resulteerde in totaal in de analyse van 10 serum- en 3 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.

- **Brussel, juni 2020**

In 2020 werd 1 geval van infantiel botulisme bevestigd in het labo. Het ging hier om een 2 maand oude baby die symptomen vertoonde als hypotonie, dysfagie, apneu en respiratoire insufficiëntie. Initieel werd enkel een serumstaal opgestuurd waarin geen BoNT gedetecteerd werd. Enkele dagen later werd ook een fecesstaal opgestuurd. Hierin werd zowel het BoNT toxine (type B) als de BoNT-producerende kiem (type B) gedetecteerd. De baby consumeerde artisanale honing afkomstig van Marokko. Honing is gekend als potentiële drager van *C. botulinum* sporen. Deze sporen kunnen bij baby's de colon koloniseren en lokaal BoNT produceren. Resten van de honing werden opgestuurd naar het NRC voor analyse maar hierin konden geen sporen worden gedetecteerd.

## **2.2. ANALYSES VOOR CLOSTRIDIUM PERFRINGENS**

In 2020 werden in totaal 12 humane stalen geanalyseerd voor *C. perfringens*. Het betrof 2 stoelgangstalen en 10 geïsoleerde bacteriële stammen. De stalen waren afkomstig van patiënten met gastro-intestinale klachten of werden geïsoleerd uit wonden of abscessen. 1 staal werd doorgestuurd door AVIQ in het kader van een mogelijke voedseltoxi-infectie (VTI). Bij andere patiënten was er sprake van niet-voedsel-gerelateerde infecties en waren de stalen doorgestuurd door klinische labo's, afkomstig van verwondingen of abscessen met een anaeroob karakter. De klinische stalen die doorgestuurd werden in het kader van niet-voedsel-gerelateerde infecties waren geïsoleerde *C. perfringens* stammen, waarvoor een MIC analyse en/of een moleculaire typering via qPCR werd aangevraagd, ten einde een gepaste behandeling te kunnen opstarten of voor surveillance doeleinden.

### **2.2.1. Antimicrobiële resistenties**

In 2020 werden de antimicrobiële resistenties van 8 *C. perfringens* stammen bepaald aan de hand van de MIC analyse. Deze stammen werden door verschillende ziekenhuizen in België opgestuurd naar het NRC. 1 stam werd als clindamycine-resistent gerapporteerd en was afkomstig van een patiënt met een septische artritis. De interpretatie 'sensibel' versus 'resistent' is gebaseerd op de klinische breekpunten die vastgelegd werden door EUCAST voor Gram-positieve anaerobe bacteriën, inclusief *Clostridium* species.

### **2.2.2. Toxinotype**

Verder werd voor 9 *C. perfringens* stammen ook het toxinotype bepaald. Bij 1 stam afkomstig van een patiënt met cholecystitis werd een *C. perfringens* type D gerapporteerd. Er werden

ook 2 stammen als zijnde Cp $\beta$ 2 positieve *C. perfringens* type A gerapporteerd. Hiervan was 1 afkomstig van een patiënt met een wonde aan de teen en de andere afkomstig van een patiënt met symptomen als koorts en buikpijn.

Diagnose	Toxinotype <i>C. perfringens</i>
Cholecystitis	Type D (cp $\alpha$ , cp $\epsilon$ )
Pancreatitis, massieve hemolyse	Type A (cp $\alpha$ )
Onbekend (symptomen: buikpijn en koorts)	Type A (cp $\alpha$ )
Onbekend (symptomen: buikpijn en koorts)	Type A (cp $\alpha$ ), cp $\beta$ 2+
Wonde teen	Type A (cp $\alpha$ ), cp $\beta$ 2+
Periaanaal abces	Type A (cp $\alpha$ )
Wonde episiotomie	Type A (cp $\alpha$ )

### 2.2.3. Voedsel-gerelateerde infecties

2 fecesstalen (onafhankelijk) werden doorgestuurd naar het NRC in kader van een mogelijke voedsel-toxi infectie (max 1 betrokken persoon). In 1 staal kon de aanwezigheid van het enterotoxine aangetoond worden aan de hand van de PET-RPLA analyse. Er werd geen enkel klinisch staal ontvangen in kader van een cVTI ( $\geq 2$  personen) uitbraak. Wel werden 6 voedingsisolaten afkomstig van 3 mogelijke uitbraken verder geanalyseerd. Hiervan kon 1 in verband gebracht worden met de enterotoxinogene *C. perfringens*:

- **Henegouwen, mei 2020** (Delbrassinne et al., 2021)

21 mensen werden ziek met symptomen als diarree en buikpijn. Zij consumeerden allen een afhaalmaaltijd van hetzelfde restaurant. Verschillende stalen waaronder maaltijdresten (paella) werden opgestuurd ter analyse. Uit de restjes van 3 maaltijden (paella) werd een *C. perfringens* geïsoleerd die vervolgens door het NRC als een enterotoxinogene *C. perfringens* geïdentificeerd werd. Er werden geen klinische stalen opgestuurd naar het NRC waardoor verdere bevestiging van de link tussen het voedsel en de humane stalen niet mogelijk was.

## 2.3. ANALYSES VOOR CLOSTRIDIUM TETANI

In 2020 werden 5 klinische stalen (serum) opgestuurd voor detectie van het tetanus toxine. In geen van de stalen werd het tetanus toxine gedetecteerd. Naast de labodiagnostiek van tetanus, wordt ook de vaccinatiestatus nagekeken door titerbepaling van tetanus antilichamen aanwezig in het bloed. Hiervan werden dit jaar 889 stalen ontvangen en geanalyseerd.

### 3. Epidemiologische karakteristieken

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

#### 3.1. CLOSTRIDIUM BOTULINUM

Volgens de gegevens van het NRC is humaan botulisme zeldzaam in België (zie Tabel 1). Sinds 1988 werden slechts 21 gevallen van humaan botulisme bevestigd in België. Hierbij werden 18 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 (2 gevallen). De laatste 5 jaar werden ook 3 gevallen van infantiel botulisme bevestigd.

Tabel 1 – Incidentie van humaan botulisme in België (1988-2020).

Gegevens van het NRC <i>C. botulinum</i> , <i>C. perfringens</i> en <i>C. tetani</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 <sup>a</sup>	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 <sup>b</sup>	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 <sup>c</sup>	ongekend
2017	0		
2018	0		
2019	1	B <sup>c</sup>	Ongekend
2020	1	B <sup>c</sup>	Artisanale honing (niet bevestigd)

<sup>a</sup> geval gemeld door de Franse gemeenschap;

<sup>b</sup> waarvan 1 geval van infantiel botulisme (Godart et al., 2014);

<sup>c</sup> infantiel botulisme

### 3.2. CLOSTRIDIUM PERFRINGENS

In het kader van het NRC is de surveillance van cVTI's 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 2020 kon in 1 cVTI de aanwezigheid van enterotoxinogene *C. perfringens* in voeding aangetoond worden die geleid heeft tot 21 zieke personen.

**Tabel 2 –** Gevallen van voedseltoxi-infecties door *C. perfringens* in België (2013-2020).

Gegevens van het NRC <i>C. botulinum</i> , <i>C. perfringens</i> en <i>C. tetani</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
2020 (1)	Henegouwen	21	Voeding	TIAC/2020/HAI/003 : paella

### 3.3. CLOSTRIDIUM TETANI

Zowel in 2018 als in 2019 werd door het NRL *C. tetani* 1 geval van tetanus bevestigd in het lab. Het ging respectievelijk over personen van 79 en 73 jaar oud. Bij de 2<sup>e</sup> persoon werden geen tetanus antilichamen gevonden in het bloed. Het tetanusvaccin werd meer dan 15 jaar geleden toegediend. Bij de 1<sup>e</sup> persoon kon geen anti-tetanus titer bepaald worden en ook de vaccinatioestand was niet gekend. In 2020 werd geen geval van tetanus bevestigd.

**Tabel 3** – Aantal in het lab bevestigde gevallen van tetanus in België.

Jaar	Provincie	Leeftijd (jaar)	Titerbepaling tetanus antilichamen (IU/mL)	10-jaarlijkse herhaling gekregen?
2015 <sup>a</sup>	/	/	/	
2016 <sup>a</sup>	/	/	/	
2017 <sup>a</sup>	/	/	/	
2018 <sup>a</sup>	West-Vlaanderen	79	Onbekend	Onbekend
2019 <sup>a</sup>	Oost-Vlaanderen	73	< 0.01	Neen
2020	/	/	/	

<sup>a</sup> Data van het NRL *C. tetani*

## 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/](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/)
- C. Wyndham-Thomas, T. Van Nieuwenhuysen, 2018. *Epidemiologische surveillance van tetanus Clostridium tetani – beschikbare gegevens in 2018.*  
[https://www.sciensano.be/sites/default/files/tetanus\\_2018\\_nfinal\\_2.pdf](https://www.sciensano.be/sites/default/files/tetanus_2018_nfinal_2.pdf)
- Delbrassinne L., Verhaegen B., Denayer S., Van Hoorde K. 2021. *Voedselvergiftigingen in België, jaarverslag 2020*, Sciensano. Depotnummer: D/2021/14.440/70  
([https://www.sciensano.be/sites/default/files/jaarverslagboekje\\_vti2020\\_nl\\_2021\\_1.pdf](https://www.sciensano.be/sites/default/files/jaarverslagboekje_vti2020_nl_2021_1.pdf))