

RAPPORTERING VOOR HET JAAR 2021

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 2021

In 2021 werden 10 serum- en/of fecesstalen van 6 patiënten geanalyseerd voor verdenking van humaan botulisme. Bij geen van de patiënten kon botulisme bevestigd worden in het labo.

Voor de analyse van *C. perfringens* werden dan weer 11 humane stalen doorgestuurd naar het NRC. Het betrof voornamelijk fecesstalen en bacteriële isolaten. Bovendien werden in 2021 4 voedingsisolaten ontvangen voor de analyse van *C. perfringens* in het kader van een voedseltoxi-infectie. Bij 2 collectieve voedseltoxi-infecties (cVTI) kon *C. perfringens* als oorzaak aangeduid worden. Hierbij werden in totaal 10 mensen getroffen.

Verder werden ook 4 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 verandering in incidentie van de pathoëgen 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 2020 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"> ➤ 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 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Detectie van het tetanus toxine via de <i>in vivo</i> referentiemethode. ➤ Tetanos antilichaambepaling via ELISA

2.1. ANALYSES VOOR CLOSTRIDIUM BOTULINUM

In 2021 werden in totaal 10 klinische stalen doorgestuurd naar het NRC voor de analyse van *C. botulinum* en botuline neurotoxine (BoNT). Deze stalen waren afkomstig van 6 verschillende patiënten en werden genomen in het kader van verdenkingen van humaan botulisme. Van 4 patiënten werd zowel feces als serum ontvangen en van 2 patiënten enkel serum. Dit resulteerde in totaal in de analyse van 6 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. In 2021 werd in geen van de klinische stalen *C. botulinum* en/of BoNT gedetecteerd.

2.2. ANALYSES VOOR CLOSTRIDIUM PERFRINGENS

In 2021 werden in totaal 11 humane stalen geanalyseerd voor *C. perfringens*. Het betrof 7 stoelgangstalen en 4 geïsoleerde bacteriële stammen. De stalen waren afkomstig van patiënten met gastro-intestinale klachten of werden geïsoleerd uit een hemocultuur. 6 stalen hiervan werden doorgestuurd door AVIQ en AZG in het kader van een mogelijke cVTI. 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.

2.2.1. Antimicrobiële resistenties

In 2021 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. Bij 1 stam (afkomstig van een patiënt met voorgeschiedenis antibiotica geassocieerde *C. difficile*) werd penicilline-resistentie vastgesteld. 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 4 *C. perfringens* stammen ook het toxinotype bepaald. Alle stammen werden als type A geïdentificeerd.

Diagnose	Toxinotype <i>C. perfringens</i>
Voorgeschiedenis AAD door <i>C. difficile</i> (symptomen: waterige diarree)	Type A (cpα)
Gedekte perforatie	Type A (cpα)
Sepsis, translocatie vanuit darm	Type A (cpα)
Onbekend (symptomen: buikpijn en koorts)	Type A (cpα)

2.2.3. Voedsel-gerelateerde infecties

1 fecesstaal werd opgestuurd naar het NRC in kader van een mogelijke voedsel-toxi infectie (max. 1 betrokken persoon). Hierin kon de aanwezigheid van het enterotoxine aangetoond

worden aan de hand van de PET-RPLA analyse. 6 fecesstalen werden geanalyseerd in kader van 4 mogelijke cVTI's (≥ 2 personen). In geen van deze stalen kon het enterotoxine gedetecteerd worden, noch grote aantallen ($>10^5$ CFU/g) *C. perfringens* geteld worden. Er werden verder ook 4 voedingsisolaten afkomstig van 4 mogelijke uitbraken verder geanalyseerd. Hiervan kon 1 in verband gebracht worden met de enterotoxinogene *C. perfringens*:

- **West-Vlaanderen, oktober 2021** (Delbrassinne et al., 2022)

6 kinderen en 1 leerkracht kregen last van diarree na consumptie van zelfgemaakte pompoensoep met balletjes. In het restje soep werd een groot aantal *C. perfringens* gedetecteerd. Toxinotype bepaling toont de aanwezigheid van het enterotoxinegen bij de *C. perfringens* stam. Hier werden helaas geen humane stalen ontvangen die deze uitbraak verder zouden kunnen bevestigen.

2.3. ANALYSES VOOR CLOSTRIDIUM TETANI

In 2021 werden 4 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 1066 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 gedetecteerd.

Tabel 1 – Incidentie van humaan botulisme in België (1988-2021).

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 ^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
2020	1	B ^c	Artisanale honing (niet bevestigd)
2021	0		

^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 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 2021 werd 1 cVTI gelinkt aan de enterotoxigene *C. perfringens*.

Tabel 2 – Gevallen van voedseltoxi-infecties door *C. perfringens* in België (2013-2021).

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
2021 (1)	West-Vlaanderen	7	Voeding	CVTI/2021/WVL/011 : pompensoeep met balletjes

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 een persoon van 79 en 73 jaar oud. Bij de 2^e persoon werden geen tetanus antilichamen gevonden in het bloed. Het tetanusvaccin werd meer dan 15 jaar geleden toegediend. Bij de 1^e persoon was het resultaat van de titerbepaling niet interpreteerbaar. De vaccinatietoestand was niet gekend. In 2020 en 2021 werd geen humaan geval van tetanus bevestigd.

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

Jaar	Provincie	Leeftijd (jaar)	Titerbepaling tetanus antilichamen (IU/mL)	10-jaarlijkse herhaling gekregen?
2015 ^a	/	/	/	/
2016 ^a	/	/	/	/
2017 ^a	/	/	/	/
2018 ^a	West-Vlaanderen	79	Onbekend	Onbekend
2019 ^a	Oost-Vlaanderen	73	< 0.01	Neen
2020	/	/	/	/
2021	/	/	/	/

^a 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/
- 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
- Delbrassinne L., Verhaegen B., Van Damme I., Van Hoorde K. 2022. *Voedseltoxi-infecties in België, jaarverslag 2021*, Sciensano. Depotnummer: D/2021/14.440/64 (<https://www.sciensano.be/en/biblio/voedselvergiftigingen-belgie-jaaroverzicht-2021>)