

RAPPORTERING VOOR HET JAAR 2022

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

Coördinator Referentiecentrum

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

1. Voornaamste bevindingen 2022

In 2022 werden 27 serum- of fecesstalen van 13 patiënten geanalyseerd voor verdenking van humaan botulisme. Bij 3 patiënten kon botulisme bevestigd worden in het labo.

Voor de analyse van *C. perfringens* werden dan weer 29 humane stalen doorgestuurd naar het NRC. Het betrof 19 fecesstalen en 10 bacteriële isolaten. Bovendien werd in 2022 ook 1 voedingsisolaat ontvangen voor de analyse van *C. perfringens* in het kader van een voedseltoxi-infectie. Bij 2 collectieve voedseltoxi-infectie (cVTI) kon de enterotoxinogene *C. perfringens* als oorzaak aangeduid worden. Hierbij werden in totaal 63 mensen getroffen.

Verder werden ook 3 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 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 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 botuline 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 2022 werden in totaal 27 klinische stalen doorgestuurd naar het NRC voor de analyse van *C. botulinum* en botuline neurotoxine (BoNT). Deze stalen waren afkomstig van 13 verschillende patiënten en werden genomen in het kader van verdenkingen van humaan botulisme. Van 9 patiënten werd zowel feces als serum ontvangen, van 3 patiënten enkel serum en van 1 patiënt enkel feces. 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 aanrijkcultuur 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 2022 werden in meerdere klinische stalen *C. botulinum* en/of BoNT gedetecteerd:

- **Casus 1: Antwerpen, juni 2022**

In juni 2022 ontving het NRC een staal serum, feces en maaginhoud van een patiënt die symptomen als krachtafname, diplopie, droge mond en dyspnoe ervaarde. Uiteindelijk was intubatie ook noodzakelijk. BoNT kon in het serum gedetecteerd worden aan de hand van de *in vivo* referentietest en via PCR kon de aanwezigheid van *C. botulinum* type E in de maaginhoud bevestigd worden. Het fecesstaal was op dat moment nog negatief. In een opvolgstaal (8 dagen later) werd geen toxine meer gedetecteerd in het serum maar werd wel *C. botulinum* type E gedetecteerd in de stoelgang, zowel via PCR als via de *in vivo* referentiemethode.

Enkele uren voor aanvang van de symptomen werd een visovenshotel van 2 dagen oud geconsumeerd. Aangezien *C. botulinum* type E vaak in verband gebracht wordt met vis werden de restanten van de ovenshotel ook geanalyseerd maar hierin kon geen BoNT noch de kiem gedetecteerd worden.

- **Casus 2: Oost-Vlaanderen, oktober 2022**

In oktober 2022 werd een patiënt met symptomen als braken, dyspnoe, gevoel geblokkeerde keel opgenomen in het ziekenhuis. Deze symptomen evolueerden verder naar een volledige verlamming met nood aan intubatie. 1 week na start van de symptomen werd een feces- en serumstaal opgestuurd naar het NRC. In serum kon BoNT gedetecteerd worden en in feces kon *C. botulinum* type B gedetecteerd worden.

De man reisde enkele weken voordien naar Polen waar hij verschillende artisanale vleeswaren gekocht had. Helaas werden deze allen weggesmeten na bevestiging van de diagnose waardoor analyse hiervan niet meer mogelijk was.

- **Casus 3: Oost-Vlaanderen, december 2022**

Begin november werd een man in het ziekenhuis binnengebracht die erg verward was en na een val niet meer in staat was terug recht te staan. Wegens onduidelijke symptomen werd pas 6 weken na opname een serum- en fecesstaal opgestuurd naar het NRC. In het fecesstaal kon nog botuline toxine gedetecteerd worden via de *in vivo* referentie methode. Helaas was er onvoldoende staal beschikbaar voor een typering.

2.2. ANALYSES VOOR CLOSTRIDIUM PERFRINGENS

In 2022 werden in totaal 29 humane stalen geanalyseerd voor *C. perfringens*. Het betrof 19 stoelgangstalen en 10 geïsoleerde bacteriële stammen. De fecesstalen waren afkomstig van patiënten met gastro-intestinale klachten. De bacteriële isolaten waren dan weer afkomstig uit hemoculturen of wonden met anaeroob karakter. 16 fecesstalen hiervan werden doorgestuurd door AVIQ en AZG in het kader van een mogelijke collectieve voedseltoxi-infectie. 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 2022 werden de antimicrobiële resistenties van 4 *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 acuut abdomen) werd Clindamycine-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 8 *C. perfringens* stammen ook het toxinotype bepaald. Alle stammen werden als type A geïdentificeerd waarvan 1 positief voor het enterotoxinegen.

Diagnose	Toxinotype <i>C. perfringens</i>
Cholecystitis bij een dialysepatiënt	Type A (cpα)
Waterige diarree	Type A (cpα), cpeA-positief
Geïnfecteerde wonde polytrauma	Type A (cpα)
Peroperatief diep abces aan elleboog	Type A (cpα)
Gangreen pols aan postoperatieve wonde	Type A (cpα)
Waterige diarree	Type A (cpα)
Leverabcessen bij gekende cholangioca	Type A (cpα)
Wonde amputatiestomp	Type A (cpα)

2.2.3. Voedsel-gerelateerde infecties

16 fecesstalen werden geanalyseerd in kader van 4 mogelijke cVTI's. In stalen van 1 uitbraak kon de enterotoxinogene *C. perfringens* gedetecteerd worden in stoelgang. In stalen van een andere uitbraak kon zowel het Enterotoxine A als de enterotoxinogene *C. perfringens* teruggevonden worden. Uit beide uitbraken kon ook een enterotoxinogene *C. perfringens* uit de verdachte maaltijd geïsoleerd worden:

- **Waals-Brabant, april 2022**

In een verzorgingstehuis kregen 30 bewoners en 3 personeelsleden last van diarree na consumptie van kalkoenstoofpot. Een fecesstaal van 1 persoon werd doorgestuurd naar het NRC en was positief voor de enterotoxinogene *C. perfringens*. Uit de maaltijd kon ook een *C. perfringens* stam geïsoleerd worden waarvan bij de toxinotype bepaling de aanwezigheid van het enterotoxinegen kon aangetoond worden.

- **Luik, september 2022**

In een verzorgingstehuis kregen 30 bewoners diarree- en buikpijnklachten. 1 persoon werd zelfs gehospitaliseerd. 5 fecesstalen werden in deze context door het NRC geanalyseerd en waren positief voor de aanwezigheid van Enterotoxine A en de enterotoxinogene *C. perfringens*. Uit de geconsumeerde maaltijd "Pasta met broccoli en zalm" kon ook een *C. perfringens* stam geïsoleerd worden waarin het enterotoxinegen aanwezig was.

2.3. ANALYSES VOOR CLOSTRIDIUM TETANI

In 2022 werden 3 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 818 stalen ontvangen en geanalyseerd. Bij 3.7% van de stalen lag de tetanus antilichaamtiter onder de beschermingsgrens (0,01 IU/mL).

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 24 gevallen van humaan botulisme bevestigd in België. Hierbij werden 19 gevallen bevestigd als type B botulisme, 1 geval als type A en 1 geval als type E. Voor 3 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). In 2022 werd voor het eerst een type E botulisme bevestigd in België.

Tabel 1 – Incidentie van humaan botulisme in België (1988-2022).

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		
2022	3	E/B/Onbekend	Visschotel (niet bevestigd) Artisanale vleesproducten (niet bevestigd) Onbekend

^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 2022 werden 2 cVTI's gelinkt aan de enterotoxinogene *C. perfringens*.

Tabel 2 – Gevallen van voedseltoxi-infecties door *C. perfringens* in België (2013-2022).

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: pompensoep met balletjes
2022 (2)	Waals-Brabant	33	Humaan + voeding	TIAC/2022/BNA/001: kalkoenstoefpot

	Luik	30	Humaan + voeding	TIAC/2022/LIE/007: pasta met broccoli en zalm
--	------	----	------------------	---

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 2020-2022 werden geen humane gevallen van tetanus meer 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	/	/	/	/
2022	/	/	/	/

^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