



**WETENSCHAPPELIJK COMITÉ VAN HET FEDERAAL  
AGENTSCHAP VOOR DE VEILIGHEID VAN DE VOEDSELKETEN**

**ADVIES 45-2006**

**Betreft: Voorstellen voor mogelijke maatregelen bij (vermoeden van) botulisme in een melkveebedrijf gebaseerd op een evaluatie van het risico voor de gezondheid van mens en dier (dossier Sci Com 2006/54)**

Het Wetenschappelijk Comité van het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen,

Gelet op de wet van 4 februari 2000 houdende oprichting van het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen, inzonderheid artikel 8 ;

Gelet op het koninklijk besluit van 19 mei 2000 betreffende de samenstelling en de werkwijze van het Wetenschappelijk Comité ingesteld bij het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen ;

Overwegende het huishoudelijk reglement bedoeld in artikel 3 van het koninklijk besluit van 19 mei 2000 betreffende de samenstelling en de werkwijze van het Wetenschappelijk Comité ingesteld bij het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen, goedgekeurd door de Minister op 27 maart 2006 ;

Gelet op de aanvraag aan het Wetenschappelijk Comité om mogelijke maatregelen bij (vermoeden van) botulisme in een melkveebedrijf voor te stellen gebaseerd op een evaluatie van het risico voor de gezondheid van mens en dier ;

Overwegende het voorlopig sneladvies van 23 november 2006 en de besprekingen gevoerd tijdens de plenaire zittingen van 8 december 2006 en van 19 januari 2007 ;

**geeft het volgende advies :**

**1. Referentietermen**

Op 17 november 2006 werd aan het FAVV een vermoeden van botulisme gemeld op grond van hoge sterfte bij volwassen melkvee op een melkveebedrijf. DG Controlebeleid diende bij het Wetenschappelijk Comité een aanvraag voor sneladvies in met betrekking tot de maatregelen die in dit bedrijf dienden genomen te worden gebaseerd op de evaluatie van het risico voor de gezondheid van mens en dier. Op dit ogenblik bestaan er immers geen wettelijke maatregelen bij (een vermoeden van) botulisme bij melkvee of andere herkauwers.

Volgens een voorlopig verslag vertoonden 20 op 52 lakterende dieren neurologische symptomen, waarvan er 15 snel na het optreden van deze klinische tekenen zijn overleden, ofwel spontaan, ofwel door euthanasie. De gezonde dieren in het bedrijf bleken minder alert te zijn dan gewoonlijk. Er werden monsters genomen van de dieren (lever, bloed) en op een

aantal dieren werd een autopsie uitgevoerd. Er werden ook monsters genomen van een regenwatertank, van een waterput, van verschillende soorten voeder (graskuil, perspulp, gemalen ingekuilde triticale, eiwitkern), en van een geëthanaseerde haan met het doel de diagnose van botulisme te bevestigen door identificatie van het betreffende toxine van *Clostridium botulinum*. Bij het opstellen van het voorlopig advies waren de resultaten van deze analyses nog niet bekend. Uit een voorlopig autopsierapport bleek echter dat er geen algemene letsels waren, ook niet ter hoogte van de lever. In de dunne darm van een koe werd bloederige darminhoud gevonden. De zieke dieren werden bij het melken afgezonderd. Het was niet mogelijk om in het bedrijf de melk van gezonde en zieke dieren gescheiden te bewaren. In afwachting van een beslissing van het Voedselagentschap werd de melk geloosd in het mestreservoir. Op 4 december 2006 werd de aanwezigheid van toxinen van *Clostridium botulinum* type D in de lever van een gestorven dier bevestigd.

Er werd door DG Controlebeleid meer bepaald gevraagd :

- welke maatregelen moeten worden getroffen op een van botulisme verdacht bedrijf met melkkoeien :
  - maatregelen ten aanzien van het bedrijf
  - maatregelen ten aanzien van de melk
- welke maatregelen moeten worden getroffen in een botulisme positief melkveebedrijf al naar gelang van het type *Clostridium botulinum* :
  - maatregelen ten aanzien van het bedrijf (afvoer van stalmest, reiniging en ontsmetting, enz.)
  - maatregelen ten aanzien van de dieren
  - maatregelen ten aanzien van de melk.

Het advies bestaat uit een inleiding, een kwalitatieve risico-evaluatie met betrekking tot de volksgezondheid (op het stuk van de voedselveiligheid) en de diergezondheid in beide gevallen (vermoeden en bevestiging van botulisme) en voorstellen voor mogelijke beheersmaatregelen om met elk van deze situaties om te gaan.

## **2. Inleiding**

### ***Clostridium botulinum***

*Clostridium botulinum* is een grampositieve anaërobe sporenvormende bacterie. De bacteriën of sporen ervan kunnen ondermeer voorkomen in de grond, in slib, zee- of rivierafzettingen en planten in ontbinding (Répertoire des micro-organismes pathogènes transmis par les aliments, 1995). Ze zijn dus alomtegenwoordig. De sporen overleven zeer lang in het milieu en zijn goed bestand tegen bevroering en uitdroging. Ze kunnen ook voorkomen in het maagdarmkanaal van dieren en mensen. Als gevolg van een verontreiniging van planten of dieren kan *Clostridium botulinum* in de voedselketen terecht komen.

### **Kenmerken van *Clostridium botulinum***

*Clostridium botulinum* is onderverdeeld in 7 serotypes (A, B, C, D, E, F, G) op basis van de serologische specificiteit van het aangemaakte neurotoxine. Die toxinen zijn neurotoxische eiwitten waarvan het moleculair gewicht varieert tussen 150 kDa en 167 kDa.

Het speciës *Clostridium botulinum* is op basis van de virulentiekenmerken onderverdeeld in vier groepen (I, II, III, IV).

Bacteriën van de groepen I en II produceren toxinen van de serotypes A, B, E en F die botulisme bij mensen veroorzaken. Type B komt het meeste voor en geeft aanleiding tot mildere vormen t.o.v. type A. Er zijn ook gevallen beschreven van koeien die klinische

tekenen vertoonden en stierven na inname van toxinen van *Clostridium botulinum* type B (Notermans *et al.*, 1979 ; Notermans *et al.*, 1981 ; Divers *et al.*, 1986).

Groep III bestaat uit *Clostridium botulinum* serotype C en serotype D. Een aantal wetenschappelijke referenties stelt dat serotype C en serotype D alleen een rol spelen in de ontwikkeling van botulisme bij dieren en niet bij de ontwikkeling van botulisme bij mensen (CDC, 1998; Dodds & Austin, 1998; Fach *et al.*, 1998; Shapiro *et al.*, 1998). De literatuur maakt echter ook melding van een aantal hypothesen dat serotypes C en D ook de oorzaak zouden kunnen zijn van botulisme bij de mens, maar die hypothesen werden niet bevestigd (Hatheway *et al.*, 1993).

Tot groep IV behoort *Clostridium botulinum* serotype G (Dodds & Austin, 1997).

### Warmtegevoeligheid van de toxinen en de sporen

Toxinen van *Clostridium botulinum* zijn doorgaans betrekkelijk gevoelig aan verhitting. Wat de inactivering betreft, werd melding gemaakt van de volgende tijd/temperatuur-combinaties: een verhitting tot 80°C gedurende 10 minuten of 86 °C gedurende 1 minuut (Dodds & Austin, 1997), 20 minuten bij 79°C of 5 min bij 85°C (Répertoire des microorganismes pathogènes transmis par les aliments, 1995). Deze verhittingsvoorwaarden zijn echter theoretisch en de inactivering van toxinen van *Clostridium botulinum* hangt af van de kenmerken van het levensmiddel waarin het toxine zich bevindt, of van de matrix waarop de behandeling wordt uitgevoerd (Molin *et al.*, 1967). Er wordt aanbevolen het levensmiddel gedurende 5 tot 15 minuten te verhitten tot 100°C om een volledige inactivatie van botulinum toxine te bekomen (Répertoire des microorganismes pathogènes transmis par les aliments, 1995).

De vegetatieve cellen van *Clostridium botulinum* worden vernietigd tijdens het pasteurisatieproces. De sporen ervan zijn echter beter tegen verhitting bestand.

De sporen van niet-proteolytische stammen (stammen die toxinen voortbrengen van type E, en sommige stammen die toxinen van types B, C, D en F voortbrengen) zijn in zekere mate gevoelig voor pasteurisatie maar de doeltreffendheid van het inactiveren door pasteurisatie hangt af van de voedselmatrix waarin de sporen zich bevinden (10 min 90°C voor 6D-reductie).

De sporen van proteolytische stammen (stammen die toxinen voortbrengen van type A, en sommige stammen die toxines van de types B, C, D en F voortbrengen) zijn het best tegen verhitting bestand. De D-waarde (de decimale reductietijd (reductie van 1 log) van de microorganismen bij een bepaalde temperatuur) bedraagt voor sporen van proteolytische *Clostridium botulinum* van type B in volle melk (pH6,15) 0,3 minuten bij 115°C (International Commission on Microbiological Specifications for Foods 5, 1996). Pasteuriseren volstaat dus niet om al deze sporen af te doden.

In tegenstelling tot pasteurisatie biedt het steriliseren van melk wel een goede garantie voor de bescherming van de volksgezondheid tegen *Clostridium botulinum* omdat deze sterilisatiebarema's steunen op het afdoden van de sporen van proteolytische *Clostridium botulinum* van type A, die als de meest resistente worden beschouwd. Bij een sterilisatiekracht gelijk aan 3 (dit is het minimumbarema voor een sterilisatie, overeenkomend met een thermische behandeling gedurende 3 minuten bij 121,1°C) wordt het aantal sporen met  $10^{12}$  verminderd. Toepassing van dit sterilisatiebarema heeft dus tot gevolg dat nog 1 spore per liter aanwezig zou blijven in melk die aanvankelijk  $10^9$  sporen per milliliter zou bevatten, hetgeen niet waarschijnlijk is. Omdat men aanneemt dat sporen van proteolytische *Clostridium botulinum* van type A het best tegen de warmte bestand zijn, mag voor de sporen van de andere serotypes een nog snellere reductie worden verwacht.

UHT-behandeling (ultra high temperature, doorgaans 2 tot 5 seconden aan 140°C) heeft wat de afdoding van sporen van *Clostridium botulinum* betreft, dezelfde uitwerking als sterilisatie.

UHT-behandeling wordt in de zuivelindustrie meer toegepast dan sterilisatie omdat het de smaak in mindere mate wijzigt en de voedingswaarde beter in stand houdt. Dit proces levert in principe ook steriele melk op die lang houdbaar is.

### **Botulisme bij de mens**

Door voedsel veroorzaakt botulisme bij de mens is een vrij zeldzame ziekte die echter uitermate ernstig is en in 10 % van de gevallen dodelijk afloopt. In België werden tussen 1990 en 2004, 9 gevallen vastgesteld die werden veroorzaakt door ofwel serotype A, ofwel serotype B. In 8 van die gevallen was de oorzaak van het botulisme voedselgerelateerd (gekookte ham, rauwe ham, aardappelen met uien en spek, olijven) terwijl de oorzaak van het overblijvende geval onbekend is (Ducoffre, 2005). Er werden geen rapporten teruggevonden waarin staat dat melk of vers vlees van rundvee met botulisme aan de oorsprong ligt van de ziekte bij mensen (Cobb *et al.*, 2002).

Men kan verschillende vormen van humaan botulisme onderscheiden:

- voedselintoxicatie door inname van vooraf in het voedsel gevormde botulisme toxinen ;
- voedseltoxi-infectie door inname van *Clostridium botulinum* bacteriën of sporen waarna deze in het maagdarmkanaal ontwikkelen en toxinen voortbrengen;
- en wondinfectie waarbij sporen van *Clostridium botulinum* zich ontwikkelen en toxinen aanmaken.

Botulisme bij de mens betreft meestal voedselintoxicatie; voedseltoxi-infectie komt zeer zelden voor. De darmflora belet dat *Clostridium botulinum* zich ontwikkelt in het maagdarmkanaal. Mensen van wie de darmflora een wijziging onderging als gevolg van een darmoperatie, een langdurige antimicrobiële behandeling of een maagdarmaandoening kunnen echter wel gevoelig zijn voor dit soort infectie. Anderzijds zijn ook baby's gevoelig omdat hun darmflora nog onvoldoende is ontwikkeld. In dat geval spreekt men van infantiel botulisme.

### **Aanwezigheid van *Clostridium botulinum* in levensmiddelen**

Ook al is *Clostridium botulinum* theoretisch anaëroob, toch kan de bacterie in gunstige omstandigheden uitgroeien in niet-hermetisch gesloten verpakkingen. De levensmiddelen die hierbij het vaakst zijn betrokken, zijn groenten- of vleesconserven, vis en visserijproducten, maar ook zuivelproducten, meer in het bijzonder smeerkaasbereidingen met een pH van meer dan 5, vooral die met een hoog vochtgehalte (dergelijke gepasteuriseerde bereidingen kunnen voor de bacterie ideale anaërobe kweekbodems zijn) (Répertoire des microorganismes pathogènes transmis par les aliments, 1995).

In de levensmiddelenindustrie steunt de veiligheid met betrekking tot *Clostridium botulinum* op de afdoding van sporen door hittebehandeling (sterilisatie), en op het afremmen van kieming en groei van de sporen van *Clostridium botulinum*, door toepassen van subminimale interne en/of externe groeiomstandigheden.

### **Botulisme bij herkauwers**

Herkauwers zijn gevoelig voor *Clostridium botulinum* types B, C en D.

Vaak liggen krengen van vogels of kleine dieren die de watervoorraad, een silo, een grasland, strooisel of het milieu in het algemeen hebben besmet of die in diervoeder werden verwerkt aan de bron van toxinen van types C en D (Prevot and Sillio, 1955, Mc Ilroy and McCracken, 1987). Dit is ook voor België beschreven waar botulisme bij herkauwers vaak samenhangt met de inname van toxinen van de types C en D die hun oorsprong vinden in karkassen van pluimvee (De Herdt *et al.*, 1991). Voor die types is het ziektebeeld zeer

typisch, nl. symptomen van parese of paralyse van de spieren of plotse dood bij meerdere dieren van het beslag.

Soms kan botulisme in verband worden gebracht met de inname van toxinen van *Clostridium botulinum* type B, die in het voeder voorkomen (bijvoorbeeld, in kuilvoer) (Notermans *et al.*, 1981), ook in België (Chiers *et al.*, 1998). In dat geval bestaat het ziektebeeld eerder uit spijsverteringsstoornissen zoals diarree, constipatie, regurgitatie, en overvloedige speekselafscheiding (Bruckstein and Tromp, 2001).

In het geval van botulisme type B op een melkveebedrijf scheiden de herkauwers, die massaal sporen van *Clostridium* type B hebben opgenomen, die bacteriën uit met de feces aan ongeveer 100 per gram feces. Via fecale besmetting van de uier kan de melk worden verontreinigd (Notermans *et al.*, 1981).

Sommige types van *Clostridium botulinum* sporen kunnen bij lage temperatuur kiemen in melk (psychrotrofe types), zich vermenigvuldigen en toxinen aanmaken (Lindström *et al.*, 2006).

De directe overdracht van toxinen van een besmet dier naar de melk kon bijna nooit worden aangetoond maar deze mogelijkheid mag toch niet worden uitgesloten omdat de farmacokinetiek van *Clostridium botulinum* toxinen niet goed bekend is. Volgens het Britse Food Standard Agency (FSA) (Report on botulism in cattle, FSA, 2005) kunnen toxinen bij mastitis mogelijks in de melk terechtkomen. Böhnel *et al* (2005) heeft recent de aanwezigheid van neurotoxine type B beschreven in de melk van een koe met botulisme en mastitis, hetgeen de mogelijke passage aangeeft van toxines naar de melk.

Het toxine kan doorgaans niet worden opgespoord in het bloed van klinisch aangetaste dieren, ook al zijn er aanwijzingen dat het toxine in de bloedsomloop aanwezig moet zijn meteen na de blootstelling (Cobb *et al.*, 2002). Dit is te wijten aan de geringe gevoeligheid van de diagnostische tests (zie verder) (Haagsma *et al.*, 1990 ; Haesebroek *et al.*, 1990).

De termijn tussen de blootstelling van runderen aan het toxine en het optreden van klinische symptomen varieert meestal van 2 tot 17 dagen (Cobb *et al.*, 2002).

De klinische diagnose van botulisme wordt meestal gesteld op basis van de anamnese en van typische klinische symptomen, eventueel aangevuld met bloedanalyse (vooral hyperglycemie en neutrofilie). Botulisme is de meest waarschijnlijke oorzaak van plotse sterfte van meerdere dieren op een bedrijf waar paralyse of parese wordt vastgesteld of waarvoor de autopsie negatief is (geen andere macroscopische of histologische letsels). Botulisme wordt ook vaak geassocieerd met aanwezigheid van pluimvee op hetzelfde bedrijf of op een naburig bedrijf waarbij bedorven pluimveekarkassen een bron van toxinen kunnen zijn (Livesey *et al.*, 2004, Otter *et al.*, 2006).

In de differentiële diagnose moet rekening gehouden worden met listeriose, rabiës, ziekte van Aujeszky, tetanus, intoxicaties met organische fosforverbindingen, koper, kwik of lood, onevenwicht in mineralenhuishouding en meningitis. Andere soorten van intoxicatie (« raaigras staggers », pyrrolizidines, enz) komen zelden voor. De lijst van mogelijke intoxicaties is theoretisch lang maar in die gevallen worden andere symptomen (maagdarmaandoeningen, organische letsels) vastgesteld.

De gebruikelijke methode voor bevestiging van botulisme in het laboratorium is via een toxine-neutraliserende bio-assay bij muizen (muizentest). Men neemt aan dat het toxine met deze test slechts bij ongeveer 15 % van de aangetaste runderen kan worden aangetoond. De klassieke ELISA testen zijn nog 10 tot 100 maal minder gevoelig dan de muizentest.

### **3. Advies**

Het Wetenschappelijk Comité vestigt de aandacht op het artikel 8 van het koninklijk besluit van 14 november 2003 betreffende autocontrole, meldingsplicht en traceerbaarheid in de voedselketen. Dit artikel bepaalt dat elke exploitant, als hij redenen heeft om aan te nemen dat een door hem geproduceerd, geteeld of gedistribueerd product schadelijk kan zijn voor de gezondheid van mens of dier, onverwijld het Agentschap in kennis moet stellen, en onmiddellijk de nodige procedures moet inleiden om het betrokken product uit de handel te nemen.

Het Wetenschappelijk Comité wijst erop dat melk van zieke koeien niet in de voedselketen mag terecht komen.

#### **3.1. Voorstellen voor maatregelen bij een verdenking van botulisme op een melkveebedrijf (maatregelen ten aanzien van de melk, maatregelen ten aanzien van het bedrijf)**

Definitie. Een **verdenking van botulisme op een melkveebedrijf** (« een van botulisme verdacht melkveebedrijf ») wordt in dit advies gedefinieerd op basis van de anamnese en de klinische ziekte tekens **en** in afwezigheid van de identificatie van het toxine bij zieke of gestorven dieren of in het voeder dat zij hebben opgenomen **en** in afwezigheid van identificatie van mogelijke andere oorzaken.

De diagnose mag niet gebaseerd zijn op de isolatie van *Clostridium botulinum* op het bedrijf, aangezien deze kiem ubiquitair is.

Als de diagnose van botulisme niet is bevestigd, kan een andere oorzaak van de plotse sterfte, die een gevaar voor de volksgezondheid kan inhouden (bijvoorbeeld chemische vergiftiging, listeriose) niet worden uitgesloten.

Het Wetenschappelijk Comité raadt in dit geval dan ook aan het voorzorgsbeginsel toe te passen en verwijst naar de aanbevelingen van het Britse Food Standard Agency (Report on botulism in cattle, FSA, 2005) die op een van botulisme verdacht melkveebedrijf in het Verenigd Koninkrijk werden toegepast (Cobb *et al.*, 2002):

- verbod op het in verkeer brengen en slachten van dieren;
- verbod op de verkoop van melk tot minimum 17 dagen na het vaststellen van klinische symptomen bij het dier dat het laatst is ziek geworden (deze periode van 17 dagen houdt rekening met de incubatieduur voor *Clostridium botulinum*). Indien een andere oorzaak geïdentificeerd wordt, moet deze periode aangepast worden in functie van de incubatieduur van dit agens.

Aangezien het aanwezige kuilvoeder verdacht is als bron van het botulisme toxine beveelt het Wetenschappelijk Comité een nauwlettende inspectie aan van de kwaliteit van het kuilvoeder in het bijzonder naar mogelijke verontreinigingen door rottende krengen (knaagdieren,...), aarde en schimmelvorming. Verdachte plaatsen mogen niet meer worden gevoederd aan de dieren. Verdacht kuilvoeder mag ook niet worden verspreid over het grasland om het gevaar van overdracht op de dieren te beperken.

Het watercircuit in de stallen kan gecontamineerd zijn en moet worden gespoeld.

### **3.2. Voorstellen voor maatregelen bij een bevestiging van botulisme op een melkveebedrijf (maatregelen ten aanzien van melk, maatregelen ten aanzien van het bedrijf en van de dieren), al naargelang het *Clostridium botulinum* type**

Definitie. De diagnose van **botulisme op een melkveebedrijf** wordt in dit advies gedefinieerd op basis van de anamnese en van de klinische ziektekenen, **en** van de identificatie van het toxine bij zieke of gestorven dieren, **en** in afwezigheid van de identificatie van mogelijke andere oorzaken.

Het Wetenschappelijk Comité vestigt de aandacht op het feit dat de diagnose van botulisme slechts in 15% van de gevallen via laboratoriumtesten bevestigd kan worden. De oorzaak hiervan is het gebrek aan gevoeligheid van de huidige diagnosetesten. Het Comité is er zich bewust dat 85% van de bedrijven die klinisch besmet zijn met botulisme, volgens deze definitie, « verdacht » blijven van botulisme, en dat bijgevolg een verbod kan opgelegd worden op de verkoop van melk.

Aangezien *Clostridium botulinum* een ubiquitair voorkomende kiem is worden de voorgestelde beheersmaatregelen in dit hoofdstuk enkel aangeraden indien er zich daadwerkelijk klinische gevallen van botulisme voordoen.

Als melkvee aangetast is door botulisme is het zeer waarschijnlijk dat de oorzaak *Clostridium botulinum* type C of D is. Zoals hoger vermeld kan de aanwezigheid van *Clostridium botulinum* type B (pathogeen voor de mens) in het bedrijf echter niet worden uitgesloten. De *Clostridium botulinum* types A, E, F en G, die van nature alleen pathogeen zijn voor mensen, vallen buiten dit advies.

#### **3.2.1. Maatregelen ten aanzien van melk**

Zoals hoger vermeld, kan melk met *Clostridium botulinum* worden besmet via fecale verontreiniging van de uier (het is immers onmogelijk om bij het melken alle fecale verontreiniging van de melk uit te sluiten) en de kiemen kunnen vervolgens eventueel toxinen aanmaken in de melk.

Het is weinig waarschijnlijk dat de toxinen van de bloedbaan naar de melk overgaan, al mag die mogelijkheid niet volledig worden uitgesloten (Cobb *et al.*, 2002, Böhnelt *et al.*, 2005).

##### 3.2.1.1. Evaluatie van het effect van hittebehandeling

Zoals vermeld in de inleiding volstaat pasteurisatie niet om de sporen af te doden en de toxinen te inactiveren. In tegenstelling maakt sterilisatie, zoals die in de zuivelindustrie wordt toegepast, het mogelijk de toxinen te vernietigen en de sporen van *Clostridium botulinum*, ongeacht het type, met ten minste 12 log ( $10^{12}$ ) te verminderen.

##### 3.2.1.2. Evaluatie van de mogelijke beheersmaatregelen

Het Wetenschappelijk Comité wijst er nogmaals op dat melk van zieke koeien niet in de voedselketen mag terechtkomen. De evaluatie van de mogelijke beheersmaatregelen hebben enkel betrekking op de (schijnbare) gezonde koeien. In alle gevallen beveelt het Wetenschappelijk Comité aan om de hoogste mate van hygiëne bij de melkwinning te hanteren (reiniging en ontsmetting van de uiers en van het melkmateriaal).

##### 3.2.1.2.1. Bij identificatie van *Clostridium botulinum* type C of D.

Niettegenstaande *Clostridium botulinum* type C of D in principe niet pathogeen is voor de mens, meent het Wetenschappelijk Comité dat wanneer klinische gevallen van botulisme

voorkomen op een bedrijf, de onderstaande maatregelen moeten genomen worden omwille van de volgende redenen:

- de aanwezigheid van zieke dieren in een bedrijf kan wijzen op een algemene verlaging van de hygiëne in de exploitatie of kan er de oorzaak van zijn, hetgeen een risico is voor de volksgezondheid;
- zelfs als slechts één type van toxine (C of D) geïdentificeerd wordt, is het nog mogelijk dat andere typen van *Clostridium botulinum* tegelijkertijd aanwezig zijn op het bedrijf (bijvoorbeeld type B), zoals beschreven door Böhnel *et al* (2005).

Het Wetenschappelijk Comité is van oordeel dat de melk van gezonde of asymptomatische koeien die van dit bedrijf afkomstig is mag worden verkocht met het oog op de consumptie, op voorwaarde dat:

- alle melk van het bedrijf gesteriliseerd of UHT behandeld wordt voor een periode van minimum 17 dagen vanaf het optreden van het laatste geval van botulisme in het bedrijf, om de sporen te vernietigen en de toxines te inactiveren;
- alles in het werk wordt gesteld om binnen het bedrijf de melk van de zieke dieren gescheiden te houden om te vernietigen.

Het Wetenschappelijk Comité wijst erop dat het in de praktijk moeilijk haalbaar is voor de zuivelfabriek om melk van besmette bedrijven en van niet besmette bedrijven gescheiden te verwerken om de sterilisatie van de melk van de besmette bedrijven te garanderen. Indien de melk van de besmette bedrijven aan de melkerij wordt verkocht, dient de zuivelkolom te kunnen instaan voor specifieke terugtracerscontroles om te verzekeren dat deze melk wel gesteriliseerd werd.

Het Comité meent eveneens dat melk afkomstig van besmette bedrijven niet mag worden gebruikt voor verdere transformatie die geen sterilisatie inhoudt, zoals bijvoorbeeld via melkpoeder.

#### 3.2.1.2.2. Bij identificatie van *Clostridium botulinum* type B

Indien het voor de mens pathogene *Clostridium botulinum* type B wordt vastgesteld, komen volgens het Wetenschappelijk Comité twee verschillende beheersmaatregelen in aanmerking:

- ofwel moet de melk van de gezonde of asymptomatische koeien uit de voedselketen worden geweerd gedurende de volledige incubatieduur (minimum 17 dagen) vanaf het optreden van het laatste geval van botulisme in het bedrijf (Cobb *et al.*, 2002). Dit voorstel houdt rekening met het feit dat *Clostridium botulinum* type B pathogeen voor de mens is.
- ofwel kan de melk van de gezonde of asymptomatische koeien worden verkocht met het oog op de consumptie, op voorwaarde dat:
  - o alle melk van het bedrijf gesteriliseerd of UHT behandeld wordt voor een periode van minimum 17 dagen vanaf het optreden van het laatste geval van botulisme in het bedrijf, om de sporen te vernietigen en de toxines te inactiveren;
  - o alles in het werk wordt gesteld om binnen het bedrijf de melk van de zieke dieren gescheiden te houden om te vernietigen.

Deze mogelijkheid is gebaseerd op het feit dat via sterilisatie van de melk een voldoende garantie wordt bekomen voor de volksgezondheid.

De andere aandachtspunten die in punt 3.2.1.2.1. werden vermeld zijn ook hier van toepassing.



### **3.2.2. Maatregelen in het bedrijf (afvoer van stalmest, reiniging en ontsmetting)**

*Clostridium botulinum* komt overal in het milieu voor. Het heeft dus geen zin het hele bedrijf te reinigen en te ontsmetten. De meest voorkomende oorzaken van botulisme bij runderen zijn echter :

- toxinen van type C en D. Deze zijn meestal afkomstig van kregen van vogels (er zou moeten worden onderzocht of ook pluimvee wordt gehouden op het bedrijf of in de buurt ervan) en andere dieren die de watervoorraad in tanks of drinkbakken, de silo's met voeder, het strooisel of het milieu in het algemeen kunnen verontreinigen.
- sporen of toxinen van type B. Deze kunnen aangemaakt zijn in diervoeders (kuilvoer, plantaardig materiaal) die sporen bevatten.

Vanwege het grote aantal aangetaste dieren op het vermelde bedrijf zijn deze courante bronnen van botulisme het meest waarschijnlijk.

Het Wetenschappelijk Comité raadt dan ook aan al het mogelijke te doen om de bron van verontreiniging in het bedrijf te identificeren en, indien ze wordt geïdentificeerd, ze op te ruimen zodat besmetting van de dieren wordt vermeden.

Aangezien het aanwezige kuilvoeder verdacht is als bron van het botulisme toxine beveelt het Wetenschappelijk Comité een nauwlettende inspectie aan van de kwaliteit van het kuilvoeder in het bijzonder naar mogelijke verontreinigingen door rottende kregen (knaagdieren,...), aarde en schimmelvorming. Verdachte plaatsen mogen niet meer worden gevoederd aan de dieren. Verdacht kuilvoeder mag ook niet worden verspreid over het grasland om het gevaar van overdracht op de dieren te beperken.

Het watercircuit in de stallen kan gecontamineerd zijn en moet worden gespoeld.

Als in de handel aangekocht diervoeder de bron van intoxicatie blijkt te zijn, is een stroomopwaarts onderzoek, met een tracersing van de oorsprong van de voeders, noodzakelijk om eventueel andere bedrijven te identificeren die ook getroffen kunnen zijn.

In het geval botulisme werd veroorzaakt door *Clostridium botulinum* type B afkomstig van brouwerijdrif (bijproduct van mout) is het nuttig om de brouwerij van oorsprong terug te traceren die deze gerst gebruikt. Het is immers niet uitgesloten dat er gevaar is voor verontreiniging van het bier.

De diervoeders (krachtvoeder, drif, enz) die als de bron voor intoxicatie worden erkend, mogen niet meer gevoederd worden.

### **3.2.2. Maatregelen bij de dieren**

Het Wetenschappelijk Comité raadt aan om, bij een bevestiging van botulisme van type B en in geval van aanwezigheid van zieke dieren op een melkveebedrijf, de dieren tot minimum 17 dagen nadat de eerste symptomen bij het laatste dier werden vastgesteld op het bedrijf te houden om fecale verspreiding van de sporen door de zieke dieren of de dieren in incubatie te vermijden (Notermans *et al.*, 1981).

Ten slotte beveelt het Wetenschappelijk Comité aan dat zowel betere diagnostische testen voor de snelle en gevoelige detectie van het toxine als doeltreffende vaccins ter bescherming van botulisme bij melkvee zouden worden ontwikkeld.

#### 4. Conclusie

Dit advies beschrijft de verschillende beheersmaatregelen die kunnen genomen worden op een melkveebedrijf bij (vermoeden van) botulisme.

DEFINITIE			
VERDENKING VAN BOTULISME		BEVESTIGING VAN BOTULISME	
Anamnese en klinische symptomen	+	Anamnese en klinische symptomen	+
Identificatie botulinum toxine	-	Identificatie botulinum toxine	+
Identificatie van andere oorzaken	-	Identificatie van andere oorzaken	-

MAATREGELEN			
VERDENKING VAN BOTULISME		BEVESTIGING VAN BOTULISME	
<b>MELK</b>	- Voorzorgsbeginsel toepassen	<b>MELK</b>	Enkel van gezonde of asymptomatische dieren
	- Verbod verkoop tot 17 dagen na begin symptomen bij laatste dier	<i>Clostridium botulinum</i> type C of D	- Sterilisatie melk of UHT behandeling tot 17 dagen na begin symptomen bij laatste dier
		Clostridium type B	- Ofwel verbod verkoop tot 17 dagen na begin symptomen bij laatste dier - Ofwel sterilisatie melk of UHT behandeling tot 17 dagen na begin symptomen bij laatste dier
<b>KUILVOEDER</b>	- Verdachte plaatsen niet meer voeren	<b>KUILVOEDER</b>	- Verdachte plaatsen niet meer voeren
	- Niet uitspreiden op grasland		- Niet uitspreiden op grasland
		<b>KRACHTVOEDER</b>	- Indien bron: terug traceren tot veevoederbedrijf; niet meer voeren

		<b>DRAF</b>	- Indien bron: terug tracersing tot brouwerij; niet meer voederen
<b>WATER</b>	- Leidingen en reservoirs spoelen	<b>WATER</b>	- Leidingen en reservoirs spoelen

Namens het Wetenschappelijk Comité,

Prof. Dr. Ir. André Huyghebaert,  
Voorzitter,

Brussel, 29 januari 2007

### Literatuuropgave

Böhnel H., Neufeld B., and Gessler F. Botulinum neurotoxin type B in milk from a cow affected by visceral botulism. *Vet. Journal*, **2005**, 169, 124-5.

Bruckstein S., and Tromp A.M. Food poisoning in three family dairy herds associated with *clostridium botulinum* type B. *Israel Veterinary Medical Association*, **2001**, 56 ([http://www.isrvma.org/article/56\\_3\\_4.htm](http://www.isrvma.org/article/56_3_4.htm)).

CDC, Centers for Disease Control and Prevention. Botulism in the United States, 1899-1996. Handbook for Epidemiologists, Clinicians, and Laboratory Workers, Atlanta, GA. Centers for Disease Control and Prevention, **1998** ([http://www.cdc.gov/NCIDOD/DBMD/diseaseinfo/files/botulism\\_manual.htm#II](http://www.cdc.gov/NCIDOD/DBMD/diseaseinfo/files/botulism_manual.htm#II)).

Chiers K., Haesebrouck F., en Devriese L. Een uitbraak van botulisme bij runderen veroorzaakt door *Clostridium botulinum* type B. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, **1998**, 67, 296-9.

Cobb, S.P., Hogg R.A., Challoner D.J., Brett M.M., Livesey C.T., Sharpe R.T., and Jones T.O. Suspected botulism in dairy cows and its complications for the safety of human food. *Vet. Rec.* **2002**, 150, 5-8.

De Herdt P., Haesebrouck F., Haagsma J., Devriese L.A., Dom P., en Moens J. Een uitbraak van botulisme bij runderen met hoge morbiditeit en mortaliteit. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, **1991**, 60, 216-8.

Divers T.J., Bartholomew R.C., Messick J.B., Whitlock R.H., and Sweeney R.W. *Clostridium botulinum* type B toxicosis in a herd of cattle and a group of mules. *J. Am. Vet. Med. Assos.* **1986**, 188, 382-6.

Dodds K.L. & Austin J.W. *Clostridium botulinum*. In : Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers. Doyle M.P., Beuchat L.R. and Montville T.J. American Society for Microbiology, **1997**.

Ducoffre, G. Rapport annuel 2005 sur la surveillance des maladies infectieuses par un Réseau de Laboratoires de Microbiologie. Institut Scientifique de Santé publique, Section Epidémiologie. Rapport D/2005/2505/32, **2005** (<http://www.iph.fgov.be/epidemiologie/epifr/plabfr/plabanfr/index04.htm>).

Fach P. et Perelle S. *Clostridium perfringens* et *C. botulinum*. In : Manuel de bactériologie alimentaire. Sutra L., Federighi M. et Jouve J.-L., **1998**, Paris : Polytechnica.

Haagsma J., Haesebrouck F., Devriese L., and Bertels G. An outbreak of botulism type B in horses. *Vet. Rec.*, **1990**, 127, 206.

Haesebrouck F., Haagsma J., Devriese L., Bertels G., en D'Hollander L. Een uitbraak van botulisme bij paarden met atypische symptomen. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, **1990**, 59, 234-6.

Hatheway, (1993). *Clostridium botulinum* and other clostridia that produce botulinum neurotoxin. In Hauschild, A.H.W. & Dodds, K.L. (eds) "*Clostridium botulinum* : Ecology and Control in Food", Marcel Dekker Inc., New York, pp. 3-20.

Lindström M., Kiviniemi K., and Korkeala H. Hazard and control of group II (non-proteolytic) *Clostridium botulinum* in modern food processing. *Int J Food Microbiol*, **2006**, 108, 92-101.

Liversey C.T., Sharpe R.T., and Hogg R.A. Recent association of cattle botulism with poultry litter. *Vet. Rec.*, **2004**, 154, 734-5.

McIlroy S.G., and McCracken R.M. Botulism in cattle grazing pasture dressed with poultry litter. *Irish Veterinary Journal*, **1987**, 98, 245-8.

Molin N., and Snygg B.G. Effect of lipid materials on heat resistance of bacterial spores. *Applied Microbiology*, **1967**, 15, 1422-6.

Notermans S., Kozaki S., and van Schothorst M. Toxin production by *Clostridium botulinum* in grass. *Appl. Environ. Microbiol.* **1979**, 38, 767-71.

Notermans S., Dufrenne J., and Oosterom J. Persistence of *Clostridium botulinum* type B on a cattle farm after an outbreak of botulism. *Appl. Environ. Microbiol.*, **1981**, 41, 179-83.

Otter A., Livesey C., Hogg R., Sharpe R., and Gray D. Risk of botulism in cattle and sheep arising from contact with broiler litter. *Vet Record*, **2006**, 159, 186-7.

Prevot, A.R., and Sillio R. A biological enigma: resistance of cats to *Clostridium botulinum* toxin. *Annales de l'Institut Pasteur*, **1955**, 41, 179-83.

Répertoire des micro-organismes pathogènes transmis par les aliments. Gélinas P., Agriculture et agroalimentaire Canada, **1995**.

Report on botulism in cattle. Advisory committee on the microbiological safety of food. *Ad hoc* group on botulism in cattle, december **2005**.

Shapiro R.L., Hatheway C. and Swerdlow D.L. Botulism in the United States: a clinical and epidemiologic review. *Ann. Intern. Med.*, **1998**, 129, 221-8.