



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

**Advies 34-2006  
(Raadgeving 10/2006)**

**Onderwerp: *Clostridium botulinum* type B en type D in honing  
(Dossier 2006/38 bis)**

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, met name 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 van 9 augustus 2006 tot spoedraadpleging van het Wetenschappelijk Comité met betrekking tot het risico voor de volksgezondheid van de aanwezigheid van *Clostridium botulinum* type B en type D in honing;

Overwegende het voorlopig advies (Raadgeving 10/2006) van 16 augustus 2006 en de besprekingen gevoerd tijdens de plenaire zitting van 8 september 2006;

**geeft het volgende advies :**

## 1. INLEIDING

Het DG Controlebeleid diende een aanvraag in bij het Wetenschappelijk Comité voor spoedraadpleging m.b.t. de mogelijke risico's voor de volksgezondheid verbonden aan de aanwezigheid van *Clostridium botulinum* in honing. Deze aanvraag resulteert uit de vaststelling van de aanwezigheid van *C. botulinum* type B in honing na een eerste vaststelling van *C. botulinum* type D bij routinecontroles van het FAVV in de distributie. De analyse van de honing werd uitgevoerd door het WIV-Pasteur Instituut waarbij de methode toegepast werd beschreven door Austin (1998)<sup>1</sup>.

## 2. ALGEMEEN

### *Clostridium botulinum*

*C. botulinum* is een anaërobe, Gram positieve bacterie die sporen kan vormen. De kiem kan ondermeer aanwezig zijn in de bodem, slib en afgestorven vegetatie. Ze kan ook in het maag-darm kanaal van dieren en mensen voorkomen. Via contaminatie van planten en dieren kan *C. botulinum* in de voedselketen terechtkomen.

*C. botulinum* wordt onderverdeeld in 7 serotypes (A, B, C, D, E, F, G) gebaseerd op de serologische specificiteit van het geproduceerde neurotoxine. Botuline toxines zijn neurotoxische proteïnen die een moleculair gewicht hebben tussen 150 kDa en 167 kDa. De toxines zijn relatief thermolabiel (een verhitting van 10 min bij 80 °C of 1 minuut bij 86 °C is voldoende voor de inactivatie van deze toxines) (Dodds & Austin, 1997).

Het species *C. botulinum* wordt ingedeeld in vier groepen (I, II, III, IV) volgens de fysiologische eigenschappen. De bacteriën van groep I en II produceren toxines van het serotype A, B, E en F die geassocieerd worden met het veroorzaken van humaan botulisme. *C. botulinum* stammen die behoren tot groep I komen voornamelijk voor in de bodem, terwijl stammen uit groep II voornamelijk worden geassocieerd met een waterige omgeving. Laatst genoemde stammen hebben ook een lagere optimale groeitemperatuur (Lindström & Korkeala, 2006). Groep III bevat *C. botulinum* serotype C en *C. botulinum* serotype D.

Verscheidene wetenschappelijke referenties vermelden dat het serotype C en het serotype D enkel betrokken zijn bij de ontwikkeling van botulisme bij dieren en niet bij de ontwikkeling van botulisme bij mensen (CDC, 1998; Dodds & Austin, 1998; Fach, 1998; Shapiro *et al.*, 1998). De literatuur maakt echter ook melding van vermoedens dat de serotypes C en D ook humaan botulisme kunnen veroorzaken, maar dit werd niet bevestigd (Hateway, 1993). Groep IV bevat het *C. botulinum* serotype G (Dodds & Austin, 1997).

### Botulisme bij de mens

Humaan botulisme komt zeer zelden voor in België. Tussen 1990 en 2004 werden 9 gevallen veroorzaakt door ofwel het serotype A ofwel het serotype B. Voor 8 van deze gevallen was de oorsprong voedsel gerelateerd (gekookte ham, rauwe ham, aardappelen met ajuin en spek, olijven) terwijl voor het overige geval de oorsprong niet gekend is (Ducoffre, 2005).

---

<sup>1</sup> in cultuur brengen/aanrijking van het isolaat; onderzoek door het uitvoeren van een letaliteitsexperiment bij muizen, typering door gebruik van antibotulisme sera.

Er worden verschillende vormen van botulisme onderscheiden, waaronder voedselintoxicatie (voorafgaandelijke toxinevorming in het levensmiddel), voedseltoxi-infectie (ontwikkeling van *C. botulinum* in het maag-darmkanaal door opname van kiemen of sporen, waarna toxineproductie optreedt) en wondbotulisme (infectie van een wonde met sporen van *C. botulinum* waarna groei en toxineproductie optreedt). Voedseltoxi-infectie komt zeer zelden voor; in het algemeen verhindert de darmflora de kolonisatie van *Clostridium* in het maag-darmkanaal. Echter, mensen met een gewijzigde intestinale flora t.g.v. abdominale chirurgie, een langdurige antimicrobiële behandeling of gastrointestinale aandoeningen kunnen gevoelig zijn voor dergelijke infectie. Ook baby's, die een nog onvoldoende ontwikkelde darmflora hebben, zijn gevoelig. In dit geval spreekt men van infantiel botulisme.

Infantiel botulisme wordt voornamelijk geassocieerd met honing alsook met stof en ander materiaal uit de omgeving (Lindström & Korkeala, 2006; Chin, 1977). De aandoening wordt vooral veroorzaakt door *C. botulinum* stammen die behoren tot groep I, allicht omdat de optimale groeitemperatuur van deze stammen dicht bij de lichaamstemperatuur ligt. Er werden ook gevallen van infantiel botulisme beschreven die geassocieerd werden met productie van type E en F toxines door respectievelijk *Clostridium butyricum* en *Clostridium baratii* (Lindström & Korkeala, 2006; Nevas, 2006). In Europa werden van de 49 gerapporteerde gevallen van infantiel botulisme, er 30 geassocieerd met de consumptie van honing (rapportering sinds 1978) (SCVMPH, 2002). Deze baby's waren allen jonger dan één jaar waarvan 93 % jonger dan 6 maanden. Deze gevallen werden veroorzaakt door de serotypes A, B en E (SCVMPH, 2002).

De minimale infectieuze dosis van *C. botulinum* sporen voor jonge kinderen is niet precies gekend, maar werd op basis van blootstellinggegevens geschat op 10 tot 100 sporen (SCVMPH, 2002).

### **Prevalentie van *C. botulinum* in honing**

*C. botulinum* en andere *Clostridia* die neurotoxines kunnen produceren worden erkend als het enige relevante microbiologische gevaar in honing (SCVMPH, 2002). Honing bestemd voor directe consumptie wordt soms verhit (pasteurisatie) of gefilterd, maar de sporen van *C. botulinum* worden hierdoor niet vernietigd of verwijderd.

Er zijn aanwijzingen dat sporen kunnen overleven in honing gedurende meerdere jaren. Zelfs indien opslag van de honing gebeurt bij de ideale ontkieming- en groeitemperatuur, kan *Clostridium* niet uitgroeien in honing, en dit omwille van de lage wateractiviteit ( $a_w$ ) van de honing alsook omwille van zijn inhibitorische eigenschappen (SCVMPH, 2002; Anon, 2000; Snowdon & Cliver, 1996).

*C. botulinum* werd in honing, afkomstig van verscheidene landen, waargenomen met een prevalentie die varieert tussen 2 % tot 23 %. Zo werden bijvoorbeeld prevalenties van 10, 8.5, 7.5, 6.5 en 23 % gerapporteerd in respectievelijk de Verenigde Staten, Japan, Brazilië, Italië en Japan (SCVMPH, 2002).<sup>2</sup> Meer recent werden sporen van *C. botulinum* (type A en B) gedetecteerd in 7 % van de stalen afkomstig van honing geproduceerd in Finland en in 16 % van de stalen afkomstig van honing geïmporteerd in Finland (Nevas, 2006). In Brazilië werd een prevalentie van 7.0 % *C. botulinum* waargenomen in honing (type A, B en D) (Schocken *et al.*, 1999). In België werden in 2005 in opdracht van het FAVV 4 stalen geanalyseerd die alle negatief waren. In 2006 werden reeds 14 stalen geanalyseerd waarvan 1 positief

---

<sup>2</sup> Er dient opgemerkt te worden dat de prevalentie afhankelijk is van de gevoeligheid van de gebruikte methode.

voor *C. botulinum* type D en 1 positief voor type B. Er zijn geen resultaten beschikbaar van vóór 2005 (Kimpe, 2006).

Honing die geassocieerd wordt met infantiel botulisme bevat ongeveer  $10^3$ - $10^4$  *C. botulinum* sporen per kg (Nevas, 2006; Dodds & Austin, 1997).

### **3. EVALUATIE VAN DE RISICO'S VERBONDEN AAN DE AANWEZIGHEID VAN *C. BOTULINUM* IN HONING**

Het honing producerende bedrijf voerde in het kader van haar HACCP<sup>3</sup>-plan controles uit op de inkomende grondstoffen. Het honingstaal dat positief bevonden werd door het FAVV voor *C. botulinum* type D is afkomstig van een lot van 3000 kg honing die op haar beurt afkomstig is van een mengsel van 100 ton, waarin 5 partijen honing van ca. 20 ton vermengd werden. Eén analyse voor sulfietreducerende anaërobe bacteriën (*Clostridia*) werd op elke partij uitgevoerd. De detectielimiet van deze analyse is  $10 \text{ kve}^4$  sulfietreducerende anaërobe bacteriën per gram. Twee van de vijf partijen toonden een resultaat groter dan  $10 \text{ kve}$  sulfietreducerende anaërobe bacteriën per gram. Op deze twee partijen werden bevestigingsanalyses voor *C. botulinum* uitgevoerd met een detectielimiet van  $10 \text{ kve}$  *C. botulinum* per gram. Deze analyses waren negatief. (De bevestigingsanalyse is niet gepreciseerd.)

Een tweede honingstaal werd door het FAVV positief bevonden voor *C. botulinum* type B. In dit geval was het resultaat van de analyse voor sulfietreducerende anaërobe bacteriën voor alle partijen van het betreffende lot lager dan  $10 \text{ kve}$  sulfietreducerende anaërobe bacteriën per gram.

Uit de beperkte analyseresultaten van het honing producerende bedrijf volgt dat bij een 'worst case scenario' er  $10 \text{ kve}$  *C. botulinum* type D per gram honing zouden kunnen aanwezig zijn. Een vereiste voor het optreden van toxineproductie door *C. botulinum* is echter dat een concentratie van minimaal  $10^5$ - $10^6$  kve *C. botulinum* per gram levensmiddel moet aanwezig zijn (Daifas *et al.*, 1999; Briozzo *et al.*, 1983). Uitgroei en toxineproductie van *C. botulinum* in de honing is niet mogelijk daar de minimum  $a_w$ -waarde hiervoor 0.94 bedraagt, terwijl honing een  $a_w$ -waarde heeft lager dan 0.60 (Dodds & Austin, 1997; ICMSF, 1996). Deze uitgroei kan echter wel in de darm gebeuren van kinderen jonger dan 1 jaar omdat de zuurproductie in de maag en de darmflora nog niet voldoende zijn ontwikkeld (SCVMPH, 2002). Bovendien is de verdeling van de besmetting in het product niet altijd homogeen en liggen de potentieel gevaarlijke doses voor baby's zeer laag. Bijgevolg zou in het slechtste geval van het 'worst case scenario' het eindproduct 10 sporen kunnen bevatten en een baby potentieel letaal kunnen besmetten.

Gezien het beperkt aantal genomen stalen (1 staal per partij van 20 ton), wordt de representativiteit van de staalname in vraag gesteld, temeer daar blijkt uit de literatuur dat *C. botulinum* sporen, indien aanwezig, niet-homogeen verspreid zijn in honing (Nevas, 2006). Gezien de viscositeit van honing, is het moeilijk een homogeen staal te bekomen en is het aangewezen meer dan 1 staal te analyseren. Meer kwantitatieve data zijn bijgevolg nodig om het risico op infantiel botulisme uit te sluiten.

In een advies van de Hoge Gezondheidsraad van december 2001 (HGR 7460/ADM1590) wordt gesteld dat onder de microbiologische tests die meestal gebruikt worden om de microbiologische kwaliteit van voedingsmiddelen te valideren, het opsporen van sulfietreducerende *Clostridium* ( $< 10 \text{ kve/g}$ ) niet toelaat een potentieel gevaarlijk besmettingsniveau door *C. botulinum* voor de gevoeligste baby's

<sup>3</sup> Gevarenanalyse en kritische controlepunten (Hazard Analysis and Critical Control Point)

<sup>4</sup> kve : kolonievormende eenheden

uit te sluiten. Verder wordt gesteld dat thans geen enkel uitgevoerde test toelaat de veiligheid van een verbruik door baby's te waarborgen en dat aangezien de testen op een steekproef bij de productie uitgevoerd worden, deze het waarschijnlijk niet mogelijk maken een lage en niet-homogene besmetting in een gecontroleerd lot uit te sluiten. De conclusie van het advies was dat België zou moeten aanbevelen geen honing aan kinderen jonger dan 12 maanden te geven.

#### 4. CONCLUSIE

De aanwezigheid van *C. botulinum* type D en type B werd vastgesteld in honing naar aanleiding van een routinecontrole in de distributie door het FAVV. Tot nog toe werden enkel *C. botulinum* type A, B, E en F geassocieerd met het voorkomen van humaan botulisme.

Overwegende het hierboven vermelde 'worst case' scenario m.b.t. het aantal aanwezige *C. botulinum* per gram alsook de onmogelijkheid tot uitgroei en toxineproductie in honing, wordt het risico voor de volksgezondheid (met uitzondering van kinderen jonger dan 1 jaar) door het Wetenschappelijk Comité als zeer beperkt ingeschat. Echter, gezien de gevoeligheid van kinderen jonger dan één jaar voor botulisme en het sporadisch en niet-homogeen voorkomen van sporen van *C. botulinum* in honing, wenst het Wetenschappelijk Comité te beklemtonen dat het aangeraden wordt geen honing te geven aan deze leeftijdsgroep. Het Wetenschappelijk Comité beveelt dan ook sterk aan om op alle in de detailhandel verkochte honing de vermelding aan te brengen: "niet geschikt voor kinderen jonger dan 1 jaar" of "niet toedienen aan kinderen jonger dan 1 jaar".

Tevens merkt het Wetenschappelijk Comité op dat mensen waarvan de intestinale flora verzwakt of gedestabiliseerd is t.g.v. een behandeling of aandoening en die aldus eveneens een risico lopen, best via hun behandelende arts geïnformeerd kunnen worden.

Namens het Wetenschappelijk Comité,  
De Voorzitter,

Prof. Dr. Ir. André Huyghebaert.  
Brussel, 19 september 2006

## Referenties :

- Austin, J. (1998). Detection of *Clostridium botulinum* in honey and syrups (1998). Health protection branch, government of Canada. [http://66.249.93.104/search?q=cache:iojiGKPdfswJ:www.hc-sc.gc.ca/fn-an/alt\\_formats/hpfb-dgpsa/pdf/res-](http://66.249.93.104/search?q=cache:iojiGKPdfswJ:www.hc-sc.gc.ca/fn-an/alt_formats/hpfb-dgpsa/pdf/res-).
- Anon, 2000. Microorganisms in honey. National honey board, 390 Lashley street, Longmont, CO 80501. ([www.nhb.org](http://www.nhb.org)).
- Briozzo, J., De Lagarde, E., Chirife, J., Parada, J. (1983). *Clostridium botulinum* Type A Growth and Toxin Production in Media and Process Cheese Spread. Appl. Environ. Microbiol. 45, 1150-1152.
- CDC, Centers for Disease Control and Prevention (1998). 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#I](http://www.cdc.gov/NCIDOD/DBMD/diseaseinfo/files/botulism_manual.htm#I).
- Chin, J., Arnon S.S., Midura T.F. (1979). Food and environmental aspects of infant botulism in California. Rev Infect. Dis. 1, 693-697.
- Daifas, D., Smith, J., Blanchfield, B., Austin, J. (1999). Growth and Toxin Production by *Clostridium botulinum* in Crumpets Packaged Under Modified Atmospheres. J. Food Prot. 62, 349-355.
- Dodds K.L. & Austin J.W., (1997). *Clostridium botulinum*. In : Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers. Doyle M.P., Beuchat L.R. and Montville T.J. American Society for Microbiology (January 1997).
- Fach P. et Perelle S., (1998). *Clostridium perfringens* et *C. botulinum*. In : Manuel de bactériologie alimentaire. Sutra L., Federighi M. et Jouve J.-L., 1998. Paris : Polytechnica.
- 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.
- Hoge Gezondheidsraad (2001). Advies van de Hoge Gezondheidsraad betreffende Infantiel Botulisme en honing. HGR 7640/ADM1590.
- ICMSF (1996). Microorganisms in food 5. Characteristics of Microbial pathogens. Blackie Academic & Professional, London, 503 pp.
- Kimpe, A. (2006). WIV-Pasteur Instituut. Persoonlijke mededeling.
- Lindström M and Korkeala H. Laboratory diagnostics of botulism. Clin. Microbiol.Rev. 19, 298-314.
- Nevas M. (2003). *Clostridium botulinum* in honey production with respect to infant botulism. Academic dissertation, Faculty of Veterinary Medicine, University of Helsinki, Finland.
- SCVMPH, (2002). Opinion of the Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health on Honey and Microbiological Hazards. 19-20 June 2002. Health & Consumer Protection Directorate-General.
- Shapiro, R.L., Hatheway, C. and Swerdlow, D.L., (1998). Botulism in the United States: a clinical and epidemiologic review. Ann. Intern. Med. 1998, Aug 1; 129(3):221-8.
- Snowden, J.A., Cliver, D.O. (1996). Microorganisms in honey (review). Int. J. Food Microbiol., 31, 1-26.
- Ducoffre, G. (2005). Rapport annuel 2004 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, décembre 2005 ; <http://www.iph.fgov.be/epidemi/epifr/plabfr/plabanfr/index04.htm>
- Schocken-Iturrino, R.P., Carneiro, M.C., Kato, E., Sorbara, J.O., Rossi, O.D, & Gerbasi, L.E., (1999). Study of the presence of the spores of *Clostridium botulinum* in honey in Brazil. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 1999, Jul; 24(3):379-82.