



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

**Advies 33-2006
(Raadgeving 08/2006)**

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

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 26 juli 2006 tot spoedraadpleging van het Wetenschappelijk Comité met betrekking tot het risico voor de volksgezondheid van de aanwezigheid *Clostridium botulinum* type D in honing;

Overwegende het voorlopig advies (Raadgeving 08/2006) van 27 juli 2006 en de besprekingen gevoerd tijdens de plenaire zitting van 8 september 2006;

geeft het volgende advies :

1. Referentietermen

Naar aanleiding van een routinecontrole in de distributie heeft het FAVV de aanwezigheid in 25 g honing vastgesteld van *Clostridium botulinum* type D (afkomstig van een flesje honing van 350 g). De analyse van de honing werd uitgevoerd door het WIV-Pasteur Instituut waarbij de methode toegepast werd beschreven door Austin (1998)¹.

¹ in cultuur brengen/aanrijking van het isolaat; onderzoek door het uitvoeren van een letaliteitsexperiment bij muizen, typering door gebruik van antitoxinesera.

Het honingstaal dat positief bevonden werd voor *C. botulinum* type D is afkomstig van een batch van 3000 kg honing die op zijn beurt afkomstig is van een mengsel van 100 ton, waarin 5 partijen honing van ca. 20 ton vermengd werden. Deze partijen betreffen twee partijen Mexicaanse honing uit 2005, 2 partijen Argentijnse honing uit 2004 en 2005 en één partij Hongaarse honing uit 2005.

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 *C. botulinum* type D in honing.

2. Inleiding

C. botulinum is een Gram positieve bacterie die sporen kan vormen. De gesporuleerde kiem kan lange tijd in de omgeving overleven en occasioneel planten en dieren contamineren, en zo 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. 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).

Er worden verschillende vormen van botulisme onderscheiden: voedselintoxicatie (voorafgaandelijke toxinevorming in het levensmiddel), voedseltoxi-infectie (ontwikkeling van *C. botulinum* in het maag-darmkanaal waarna toxineproductie optreedt), wondbotulisme (infectie van een wonde met sporen van *C. botulinum* waarna groei en toxineproductie optreedt) en infantiel botulisme (opname van sporen, kieming van sporen en productie van toxine in de darmen van baby's). Voornamelijk het levensmiddel honing alsook stofdeeltjes afkomstig van de bodem (Chin, 1977) worden geassocieerd met infantiel botulisme. In Europa werden van de 49 gerapporteerde gevallen van infantiel botulisme, er 30 geassocieerd met de consumptie van honing (rapportering sinds 1979) (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. Het betrof geen enkele keer *C. botulinum* type D (SCVMPH, 2002).

C. botulinum en andere *Clostridia* die neurotoxines kunnen produceren worden erkend als het enige relevante microbiologische gevaar in honing (SCVMPH, 2002). 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, 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 %. Bijvoorbeeld werden prevalenties van 10, 8.5, 7.5, 6.5 en 23 % gerapporteerd in respectievelijk de Verenigde Staten, Japan, Brazilië, Italië en Japan (SCVMPH, 2002).² 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 (SCVMPH, 2002). In Brazilië werd een prevalentie van 7.0 % *C. botulinum* waargenomen in honing, waaronder ook het serotype 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 13 stalen geanalyseerd waarvan 1 positief voor *C. botulinum* type D. Er zijn geen resultaten beschikbaar van vóór 2005 (Kimpe, 2006).

Studies tonen aan dat indien *C. botulinum* in honing aanwezig is, het veelal tussen de 1 en 10 sporen *C. botulinum* per kg betreft. Honing die geassocieerd wordt met botulisme bij baby's bevat ongeveer 10^4 *C. botulinum* sporen per kg (Dodds & Austin, 1997).

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. Geen enkel geval kent zijn oorsprong in honing en geen enkel humaan geval betrof het *C. botulinum* serotype D. In België, zoals in andere landen werd evenwel botulisme van het serotype D vastgesteld bij dieren (pluimvee en runderen) (Ducoffre, 2005).

3. Evaluatie van de risico's verbonden aan de niet-conformiteit

Omdat niet uit te sluiten valt dat honing sporen van *C. botulinum* kan bevatten en omdat honing als infectiebron bij zuigelingen beschreven werd, adviseert de Hoge Gezondheidsraad in een advies van december 2001 dat België zou moeten aanbevelen geen honing aan kinderen jonger dan 12 maanden te geven (HGR 7460/ADM1590).

Zoals hierboven vermeld wordt, blijkt dat *C. botulinum* type D niet geassocieerd wordt met humaan botulisme. Het honing producerende bedrijf voerde in het kader van haar HACCP³-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 batch 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 kve^4 sulfietreducerende anaërobe bacteriën per gram. Twee van de vijf partijen toonden een resultaat groter dan 10 kve sulfietreducerende anaërobe bacteriën per gram. Op deze twee partijen werden

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

³ Gevarenanalyse en kritische controlepunten (Hazard Analysis and Critical Control Point)

⁴ kve : kolonievormende eenheden

bevestigingsanalyses voor *C. botulinum* uitgevoerd met een detectielimiet van 10 kve *C. botulinum* per gram. Deze analyses waren negatief. (De bevestigingsanalyse is niet gepreciseerd.)

Uit de beperkte analyseresultaten van het honing producerende bedrijf volgt dat bij een 'worst case scenario' er 10 kve *C. botulinum* type D per gram honing zouden 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).

De representativiteit van de staalname wordt echter wel in vraag gesteld, gezien het beperkt aantal genomen stalen (1 staal per partij van 20 ton).

4. Conclusie

De aanwezigheid van *C. botulinum* type D 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 dat *C. botulinum* type D vooralsnog niet geassocieerd werd met 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 door het Wetenschappelijk Comité als zeer beperkt ingeschat.

Het Wetenschappelijk Comité trekt evenwel de aandacht op het feit dat gezien de gevoeligheid van kinderen jonger dan één jaar voor botulisme en het sporadisch voorkomen van sporen van *C. botulinum* in honing, het aangeraden wordt geen honing te geven aan deze leeftijdsgroep. Het beveelt dan ook aan 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".

Voor het Wetenschappelijk Comité,
De Voorzitter,

Prof. Dr. Ir. A. Huyghebaert,
Brussel, 18 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-.
- Anon, 2000. Microorganisms in honey. National honey board, 390 Lashley street, Longmont, CO 80501. (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.
- 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.
- 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/epidemie/epifr/plabfr/plabanfr/index04.htm>
- Schocken-Iturrino, R.P., Carneiro, M.C., Kato, E., Sorbara, J.O., Rossi, O.D. & Gerbasí, 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.