

Botulisme bij melkkoeien anno 2008: symptomatologie, diagnostiek, pathogenese, therapie en preventie aan de hand van een catastrofaal verlopen casus

M. Holzhauser^{I,IV}, H.I.J. Roest^{II}, M.G. de Jong^{III}, J.H. Vos^I

.....

Tijdschr Diergeneeskd 2009; 564-570

Oorspronkelijk artikel

SAMENVATTING

Botulisme komt in Nederland een paar keer per jaar voor op melkveebedrijven. In dit artikel wordt een catastrofaal verlopen casus van botulisme bij een koppel melkkoeien beschreven. De voornaamste klinische klachten op dit bedrijf bestonden uit meer liggen, geringe ataxie en een hoge mortaliteit (98 procent). Zoals uit de casus blijkt, is de diagnose bij melkvee in de praktijk niet altijd eenvoudig te stellen, daarom wordt ingegaan op het klinische beeld, de laboratoriumdiagnostiek, de differentiële diagnose, de therapie en de preventie.

Aan de hand van de casus, eigen ervaringen op andere bedrijven en bevindingen uit de literatuur wordt geconcludeerd dat de aanwezigheid van zogenaamde Freilandkippen kan resulteren in een toegenomen risico op verontreiniging met botulinum neurotoxine van onder andere de weide, met aansluitend klinische problemen bij het vee. Geadviseerd wordt om in het geval van een verhoogde kans op introductie van botulisme bij rundvee preventieve vaccinatie te overwegen om (grote) economische en emotionele schade te voorkomen.

SUMMARY

Botulism in dairy cattle in 2008: symptoms, diagnosis, pathogenesis, therapy, and prevention

Botulism affects about 20 dairy herds a year in the Netherlands. This article describes the dramatic outcome of botulism in a dairy herd. The main clinical symptoms in this herd were increased lying down, slight ataxia of the hind legs, and a high mortality (98%). The diagnosis is difficult to establish in adult cattle, and for this reason the clinical and laboratory findings, differential diagnosis, therapy, and preventive measures are discussed. On the basis of this outbreak, previous experience with botulism, and cases described in literature, it is suggested that presence of "free-range" poultry could contaminate grazing pastures with

botulism neurotoxins, causing clinical problems in cattle. If there is an increased risk of contamination of the pasture and/or silage with botulinum neurotoxins, vaccination should be considered to prevent substantial economic and emotional damage.

INLEIDING

Botulisme door een intoxicatie met *Clostridium botulinum* (*C. botulinum*)-toxinen is een ziektebeeld dat al in het begin van de negentiende eeuw is beschreven. Aan het einde van de negentiende eeuw werd de productie van toxinen in voedselresten aangetoond (8). *C. botulinum* is een Gram-positieve anaerobe sporenvormende staafvormige bacterie, die een zeer potent neurotoxine (BONT) produceert, vooral in kadavers, maar een enkele keer ook buiten het dier (bijvoorbeeld in honing). Dit BONT is buitengewoon toxisch voor alle zoogdieren (12); 1 gram zuiver BONT gelijkmatig verdeeld door het voer kan meer dan 100.000 koeien doden (13). Men onderscheidt zeven typen BONT (A, B, C, D, E, F en G), waarbij de geografische verspreiding tussen deze vormen verschilt, evenals de toxiciteit voor de verschillende diersoorten (de mens is bijvoorbeeld vooral gevoelig voor types A, B, E en F). BONT is thermolabiel, maar kan met name onder anaerobe omstandigheden (temperatuur onder de 75 graden Celsius) maandenlang toxisch blijven in de omgeving.

Het BONT remt de vrijgifte van acetylcholine op de motorische eindplaatjes van de spiervezels. Het klinische gevolg is parese en uiteindelijk paralyse van de spieren (29). Bij rundvee (en ook bij schapen) was bij botulismegevallen tot 1978 bijna altijd type C BONT betrokken. Na 1978 werden de eerste gevallen waargenomen van botulinum type B-intoxicatie (4, 17). In 1979 werd door Haagsma het eerste geval van botulisme type D bij runderen vastgesteld (16). De typen B, C en D komen dus alle voor in Nederland. Types C en D worden daarbij in verband gebracht met kadavers van respectievelijk watervogels en pluimvee. Type B wordt daarentegen in verband gebracht met (heel) slecht geconserveerd ruwvoer. Voor de vermeerdering van de kiemen en dus de productie van BONT is een eiwitrijk milieu noodzakelijk, in combinatie met anaerobe omstandigheden, een bepaalde temperatuur (hoger dan 15 tot 25 °C (optimaal is ±30 °C)), een hoge vochtigheid en een zuurgraad (pH) groter dan 4,5 (18). Botulisme treft vaak meer dieren op een bedrijf tegelijk of binnen een korte tijd.

Het doel van dit artikel is om aan de hand van de beschrijving van een catastrofaal verlopen casus nader

I GD, Arnsbergstraat 7, 7814 EZ Deventer.

II CVI, Edelhertweg 15, 8219 PH Lelystad.

III DAP Ell, Hoogstraat 7, 6011 RX Ell.

IV corresponderend auteur: m.holzhauser@gddeventer.com

inzicht te verschaffen in de etiologie, kliniek, diagnostiek, pathogenese en preventie van botulisme bij volwassen koeien.

VELDERVARINGEN (DAP ELL)

Beschrijving van het bedrijf

Het betreffende bedrijf is gelegen in Limburg en bestaat uit een rundveetak (45 melkkoeien met bijbehorend jongvee, gehouden op 25 hectare) en een stal met 33.000 leghennen met dagelijks vrije uitloop, zogenaamde Freilandkippen.

De melkkoeien worden geweid op huiskavels direct aansluitend aan de pluimveestal. Een deel van het jongvee wordt geweid aan de voorzijde van de boerderij en een deel (drachtige pinken) wordt verder van huis geweid. De melkkoeien hadden vanaf eind april dag en nacht weidegang met bijvoeding van snijmaïssilage en krachtvoer aan een voerhek.

Beschrijving klinische symptomen 2008

In juni werd het bedrijf geconfronteerd met peracute sterfte van een drachtige pink en een melkkoe enkele dagen na een sectio (beiden zonder voorafgaande symptomen) en paralyse bij twee melkkoeien. Omdat de waarschijnlijkheidsdiagnose botulisme toen erg aannemelijk was, is via bloedonderzoek van drie koeien bij het Centraal Veterinair Instituut in Lelystad (CVI) specifiek gekeken naar BONT. In overleg met de GD is bij het CVI vaccin besteld.

Eind juni zijn twee koeien met progressief verlopende paralyse van de achterhand geëuthanaseerd, werden er twee dieren opgemerkt met paralyse van de tong en werden drie (vooral jonge) melkkoeien dood in de weide gevonden zonder voorafgaande symptomen. Het bloedonderzoek op BONT verliep negatief. Toch zijn op dat moment op basis van het feit dat er pluimvee aanwezig was, alle dieren gevaccineerd tegen BONT type C en D. Tegelijkertijd bezocht een rundveedierenarts van GD het bedrijf, samen met de bedrijfsdierenarts en de voervoorzitter. De hele situatie werd geëvalueerd en de te nemen maatregelen en de te verwachten scenario's werden doorgesproken. Onderzoek van de weide naar mogelijke bronnen van vergiftiging leverde niets op. Desondanks bleven zich continu nieuwe patiënten aandienen met als voornaamste klacht parese (onzekere gang en gauw weer gaan liggen) en paralyse van de achterhand, regelmatig gevolgd door zeer snelle sterfte. Ingestelde therapieën hadden geen enkel effect. Een beperkt aantal dieren (onder andere vanwege de beperkte voorraad antiserum bij het CVI) werd behandeld met 50 milliliter type C en D specifiek antiserum (niet officieel geregistreerd en gebruik ervan is op eigen risico). Twee peracuut gestorven runderen zijn voor pathologisch onderzoek aangeboden bij GD. Tegelijk zijn twee monsters van de maïssilage mee-gestuurd voor nader onderzoek op BONT. Er werd daarin echter geen BONT aangetoond.

De sectie op de gestorven dieren leverde behalve een droge inhoud van de pens en het maagdarmkanaal geen enkele afwijking op. De pensinhoud en de lever van deze

twee runderen zijn naar het CVI gestuurd voor nader onderzoek op BONT. Bij onderzoek van lever en nieren op zware metalen werden geen verhoogde waarden gevonden. Eén week na het laatste slachtoffer op het bedrijf meldde het CVI dat in de afgehevelde pensvloeistof BONT type D was aangetoond.

De dagen na het gemeenschappelijke bedrijfsbezoek moesten meerdere melkkoeien en dragende pinken worden geëuthanaseerd, waaronder ook dieren die met antiserum waren behandeld. Uiteindelijk zijn 39 melkkoeien (98 procent) en vier drachtige pinken gestorven en/of geëuthanaseerd. Omdat er zeven dagen na de vaccinatie nog een drachtige pink stierf die geen maïskuil had gehad, leek de weide (met een drinkpoel) als bron aannemelijker dan de maïskuil. Vier weken na de eerste vaccinatie werden alle overgebleven dieren op het bedrijf voor de tweede maal gevaccineerd.

Tien en veertien dagen na intensieve verzorging kwamen twee met serum behandelde pinken, die continu waren blijven eten en drinken (water en voer werd dagelijks een paar maal vers in de wei gebracht en de dieren werden regelmatig omgelegd), weer overeind. De dieren waren flink vermagerd, maar begonnen gelijk weer te weiden. Mogelijk door lage BONT-opname, de jonge leeftijd of een combinatie daarvan, is het dus wel mogelijk dat dieren een BONT-intoxicatie overleven, mits ze blijven eten en drinken.

Het bedrijf heeft in september de nieuwbouw van de stal afgerond en in oktober heeft herbevolking plaatsgevonden met een nieuw aangekochte melkveestapel, die voorafgaand aan de aanvoer tweemaal is gevaccineerd tegen botulisme.

Beschrijving klinische symptomen 2007

Gelet op de klinische klachten en het verloop is het mogelijk dat de problematiek ook al in het voorgaande jaar heeft gespeeld op het bedrijf. Aan het einde van de zomer van 2007 vertoonde een drachtige pink namelijk parese/paralyse en peracute sterfte. Aansluitend vertoonden drie koeien acuut optredende paralyse, in afwezigheid van koorts. Bij geen van de patiënten werd enig effect waargenomen van de ingestelde therapieën (onder andere Ca/Mg, glucose-infuus, NSAID en corticosteroiden). In relatie tot de eveneens aanwezige ernstige aantasting van de neusspiegel en neusgang, en de aangetoonde positieve serologie op het bedrijf, werd de uitval op dat moment toegeschreven aan de ook op andere bedrijven voorkomende bluetongue type 8 (BTV8)-infecties. Bij op de GD uitgevoerd postmortaal onderzoek werd als meest waarschijnlijke doodsoorzaak een bloeding van het abomasum geconstateerd. Twee volgende patiënten met paralyse werden geëuthanaseerd en bij sectie werd ernstig longoedeem vastgesteld en geringe overvulling van de dunne darm, en lever-, nier- en miltzwelling. Het onderzoek van beide dieren op botulisme verliep negatief. Voor de kliniek en de sectie kon behalve een BTV8-infectie geen andere definitieve diagnose worden vastgesteld. Hierdoor en door

de op dat moment alom voorkomende BTV8-infecties leek botulisme geen logische diagnose. Tot het begin van het weideseizoen in 2008 traden er geen verdere problemen op.

Schade

De totale dierenartskosten van deze uitbraak bedroegen in 2008 naar schatting 7000 euro, exclusief de vaccinatiekosten van de nieuwe veestapel en de toekomstige botulismevaccinaties (vanaf circa twee maanden leeftijd tweemaal en jaarlijks herhaald). Daarnaast heeft deze uitbraak de veehouder en zijn gezin gedurende het hele jaar zeer veel extra arbeid en emotionele schade bezorgd.

De aankooprij van de nieuwe koeien was (uiteraard) hoger dan de uitkering uit de catastrofeverzekering, maar zonder deze verzekering zou de financiële strop niet te overzien zijn geweest.

DIAGNOSTIEK VAN BOTULISME BIJ HET RUND

Anamnese

In de anamnese kan melding worden gemaakt van:

- acuut optredende sterfte van meerdere dieren;
- sterfte als enige symptoom voor de veehouder;
- symptomen van parese (soms slecht kunnen staan);
- direct of indirect contact met (feces van) pluimvee of pluimveekadavers.

Ad a. Afhankelijk van de hoeveelheid opgenomen BONT kan ook het optreden van (per-)acute sterfte met geringe of zonder voorafgaande symptomen een opvallend kenmerk zijn. Wanneer de BONT zijn opgenomen via besmet voer zullen vaak meerdere dieren ziek worden. De verschijnselen kunnen dan beginnen na het verstrekken van besmet voer, bijvoorbeeld na het in gebruik nemen van een nieuwe kuil. Verder lijken kadavers een bijzondere aantrekkingskracht te hebben op runderen.

Ad b. Bij algemeen klinisch onderzoek worden soms weinig afwijkingen gevonden (voor specifieke details, zie klinisch onderzoek).

Ad d. Sinds de jaren negentig van de vorige eeuw is er in een aantal gevallen bij het optreden van botulisme vrijlopend pluimvee aanwezig op het betreffende bedrijf of in de directe omgeving ervan. Ook zijn er ervaringen met de opslag van mest van (jonge) kippen, waaruit vogels of kleine roofdieren resten van kadavers naar de weide verslepten. Ook in de literatuur in België, waar sprake is van een toenemend botulismeprobleem, en in Groot-Brittannië wordt een duidelijke relatie gezien met de directe aanwezigheid van kippen op of in de nabijheid van het rundveebedrijf (1, 20, 26). Daarnaast moet men bij de aanwezigheid van kadavers van watervogels altijd verdacht zijn op het voorkomen van botulisme. Hierbij gaat het meestal om *C. botulinum* type C.

Klinisch onderzoek

Op basis van onderzoek van dertig aangeboden patiënten van elf bedrijven met een *C. botulinum*-intoxicatie (type C/D) heeft de universiteit van Zürich uitgebreid de kliniek beschreven. Enkele opvallende algemene kenmerken

waren hierbij: verminderde of afwezige (50%) eetlust, ataxie (90%), en zijligging (44%). Verder zag men een toegenomen hart- en ademfrequentie (respectievelijk 50% en 100%), een matige tot slechte turgor (100%) en een verlaagde huidtemperatuur (100%). Opvallende neurologische kenmerken waren: verminderde retractie van de tong (100%), verminderde/afwezige staarttonus (100%), verminderde sensitiviteit van de huid (100%) en afgenomen spinale reflexen (100%). Daarnaast was de motiliteit van de pens verminderd dan wel afwezig (100%), was de mestproductie afgenomen (90%) en was er sprake van slecht verteerde feces (58%) (3). In Groot-Brittannië meldt men een progressief verloopende paralyse (bij meerdere dieren) die resulteert in platliggen en sterfte als voornaamste symptoom (26). In een eerder beschreven casus waar GD bij betrokken was, waren acute sterfte, paralyse van de achterhand, een slappe tong en speekselen opvallende symptomen (30). De opvallende symptomen bij de beschreven casussen in België (type D) waren het optreden van lusteloosheid en paralyse bij meer dieren (20). In een publicatie uit Canada wordt ook melding gemaakt van paralyse met behoud van eetlust; oppervlakkige, iets versnelde ademhaling; geringe dehydratie; en acute sterfte (23).

Hoewel *C. botulinum* type B-intoxicatie mogelijk minder frequent voorkomt, besteden we er hier gezien de afwijkende kliniek en de mogelijke risico's als zoonose toch enige aandacht aan. De klinische symptomen bij type B-botulisme zijn typisch. Ze zijn aanvankelijk gerelateerd aan een verteringsstoornis, die gepaard kan gaan met een indigestie en/of diarree. Verder zijn speekselvloed en regurgitatie karakteristiek. Door slik- en regurgitatieproblemen kan soms een aspiratiepneumonie optreden. In deze gevallen hoeft dus geen sprake te zijn van parese of paralyse (5). Bij type B-botulisme is voor vermeerdering van de bacterie geen kadavermateriaal nodig. Het BONT van deze variant werd aangetoond in bierbostel en in graskuil (25).

Klinisch-chemisch onderzoek

Bloedonderzoek geeft over het algemeen weinig specifieke informatie. Indien de dieren een of enkele dagen blijven liggen, zal men als gevolg van de daardoor opgetreden spierbeschadiging vaak een verhoging vinden van de enzymen aspartaat aminotransferase (AST), lactaat dehydrogenase (LDH) en creatine fosfokinase (CK). In een vroeg stadium kan het zinvol zijn het calcium- en magnesiumgehalte in het bloed te bepalen om andere diagnoses uit te sluiten. Indien de dieren al een aantal dagen liggen en slecht of niet eten, zal men bij bloedonderzoek zeker afwijkende waarden vinden (bijvoorbeeld K, Mg, glucose), maar dit wordt algemeen als secundair beschouwd. Ten behoeve van de bevestiging van de waarschijnlijkheidsdiagnose botulisme kan 100 milliliter volbloed, 50 tot 100 milliliter pensinhoud en 50 tot 100 gram feces worden ingestuurd. De ervaring leert echter dat serum van runderen meestal negatief is en feces en darminhoud vaker positief zijn. Een positieve uitslag is bevestigend

voor botulisme, bij een negatieve uitslag kan botulisme zeker niet worden uitgesloten.

Postmortaal onderzoek

Voor de bevestiging van de waarschijnlijkheidsdiagnose is een rund dat of heel kort ziek is geweest, dan wel een acuut gestorven dier (bij meerdere dode dieren) het meest geschikt. Bij postmortaal onderzoek zullen vaak geen duidelijke afwijkingen worden gevonden en verloopt het onderzoek naar zware metalen ter uitsluiting van een mogelijke intoxicatie negatief (3, 20, 30). Voor de definitieve diagnose worden de pensinhoud en de lever naar het cv1 gestuurd. In het laboratorium vindt de diagnostiek van botulisme plaats met behulp van de muis-bioassay (16) met modificaties volgens het protocol van het Center for Disease Control, vs (protocol CDC). Tot op heden is de muis-bioassay onder praktijkomstandigheden de meest gevoelige methode voor het aantonen van deze BONT (22). Bij experimenteel onderzoek is overigens gebleken dat koeien veel gevoeliger zijn voor type C botulinumtoxine per kilogram lichaamsgewicht dan muizen; de bioassay kan dus negatief uitvallen terwijl er toch sprake kan zijn van botulisme (24). Serum en lever worden onderzocht op BONT in de zogenaamde directe test. Serum wordt direct ingespoten in twee muizen. Een leversuspensie wordt ingespoten na voorbereiding. Muizen worden gescoord op typische botulismeverschijnselen. Pensvloeistof en feces worden onderzocht op de aanwezigheid van BONT in de directe test. Tevens worden de pensvloeistof en feces gekweekt om mogelijk aanwezige *C. botulinum*-bacteriën te vermenigvuldigen. Hierbij worden BONT gevormd. Deze BONT worden aangetoond in de directe test. Alternatieve methoden voor het aantonen van BONT zijn in ontwikkeling bij het cv1. Ten opzichte van de muis-bioassay laten specificiteit en sensitiviteit van deze technieken tot op heden echter (nog) sterk te wensen over.

Differentiële diagnose

Voor wat betreft de differentiële diagnose komen onder Nederlandse omstandigheden de meeste aandoeningen in aanmerking die gepaard gaan met parese/paralyse en/of (per-)acute sterfte.

- hypocalciëmie; hoewel de aandoening nog heel vaak optreedt bij oudere melkkoeien kort na de partus wordt de diagnose ook wel gesteld bij vaarzen en/of mid-lactatie. De waarschijnlijkheidsdiagnose wordt vaak bevestigd op basis van de reactie op de ingestelde therapie, dan wel op basis van een Ca-bepaling in het serum.
- hypomagnesiëmie; deze aandoening wordt behalve door de paralyse gekenmerkt door een typische excitatie. De waarschijnlijkheidsdiagnose wordt vaak bevestigd op basis van de reactie op de ingestelde therapie, dan wel op basis van een Mg-bepaling in bij voorkeur de urine.
- CCN; deze ziekte wordt klinisch gekenmerkt door centraal nerveuze stoornissen (onder andere visusstoornissen en dwangbewegingen). De definitieve

diagnose wordt gesteld op basis van typische laesies in de hersencortex en/of de reactie op een hoge dosis vitamine B₁ (9).

- intoxicaties met zware metalen (Pb, Hg), organofosforverbindingen (bijvoorbeeld parathion) en bepaalde planten (bijvoorbeeld taxus); het klinische verloop van deze intoxicaties wordt vaak gekenmerkt door kortdurende excitatie en sterfte en kan soms moeilijk te onderscheiden zijn van snel fataal verlopend botulisme. De definitieve diagnose wordt gesteld op basis van de bepaling van zware metalen in de lever en/of het aantreffen van resten van giftige planten in de pens. Diagnose van intoxicatie met organofosforverbindingen berust op een gaschromatografie-massaspectrometrie (GC-MS)-techniek vanuit de pens of voerproducten.
- listeriose; klinische listeriose kan zich manifesteren als parese/paralyse van de gladde musculatuur van de kop (uitvallen van de kopzenuwen) en als 'circling disease' (rondjes draaien in dezelfde richting en aanwezigheid van nystagmus). Dieren met deze aandoening hebben vaak een geringe temperatuursverhoging (< 40 graden Celsius) en de definitieve diagnose berust op de aanwezigheid van microabcissen en perivasculaire ontsteking in met name de hersenstam en eventueel isolatie van de kiem uit het weefsel na sectie, of eventueel gepaarde serologie als het dier de infectie overleeft (14).
- IBR; in geval van acute sterfte kan het onderscheid met deze aandoening klinisch moeilijk zijn. De sectie en het aantonen van virus (PCR op neusswab of immunohistochemie van de trachea) bevestigen echter deze waarschijnlijkheidsdiagnose.
- aandoeningen gepaard gaande met een sepsis (onder andere *Salmonella spp.* en *E. coli*) en acute sterfte; deze zijn soms moeilijk te onderscheiden van botulisme, maar de aanwezigheid van een duidelijke koortsreactie, sectie en bacteriologisch weefselonderzoek en/of salmonellaserologie zijn voldoende onderscheidend.
- elektrocutie; de anamnese kan hierbij alleen acute sterfte zijn, zoals soms bij botulisme. Ook een sectie zal veelal negatief resultaat opleveren.
- trauma; trauma gepaard gaande met parese/paralyse betreft vaak slechts een individueel dier. Verder is de oorzaak van het trauma vaak terug te vinden (eventueel bij sectie), maar soms is het onderscheid niet eenvoudig.
- BSE; dit kan niet altijd worden uitgesloten, vooral als er ataxie aanwezig is. Het belangrijkste verschil is dat botulisme vaak bij meerdere dieren in het koppel voorkomt, terwijl BSE in Nederland nooit bij meer dan één dier tegelijk op één bedrijf is aangetroffen. Ook is het verloop doorgaans trager (GD praktijkmap).
- rabiës; rabiës hangt samen met de aanwezigheid van besmette vossen en de dieren vertonen een kenmerkend gedrag. Waarschuw bij verdenking van deze ziekte onmiddellijk de vwa. De definitieve diagnose wordt gesteld bij het cv1. Rabiës is voor zover ons bekend in Nederland nooit gediagnosticeerd bij

runderen en komt op dit moment in Nederland ook niet voor bij vossen.

Therapie en preventie

• *Therapie*

Aangezien het hier om een echte voedselvergiftiging gaat, bestaat de 'therapie' uit:

– het onmiddellijk verwijderen van de bron van het BONT (eventueel opstallen) om verder contact met toxische kadaverresten te vermijden; gezien de incubatietijd is het correct de veehouder erop te attenderen dat zowel na deze als na andere maatregelen nog tot ongeveer twee weken later nieuwe gevallen kunnen optreden.

– rumenotomie; op het moment dat klinische symptomen optreden, heeft er al een behoorlijke opname van BONT plaatsgevonden en dus zal deze maatregel waarschijnlijk niet verder bijdragen aan een reductie van de ernst van de symptomen.

– antiserum; Haagsma (18) geeft aan dat er alleen effect is te verwachten tijdens circulatie van BONT. De toepassing is waarschijnlijk alleen zinvol a. in een heel vroeg stadium van de aandoening (zie ook de discussie) en b. bij een duidelijk idee over het type BONT (B, C of D). Het CVI heeft een beperkte hoeveelheid antiserum tegen het C en D BONT op voorraad. Let op: dit antiserum is niet geregistreerd als diergeneesmiddel. Het antiserum kan worden ingezet in individuele gevallen waarbij een sterke verdenking van botulisme bestaat of waarbij de diagnose botulisme al is gesteld bij koppelingen. Na overleg kan het antiserum worden verstrekt. De ervaring met het gebruik van antiserum bij rundvee is beperkt en ook het nuttige effect zal moeilijk aantoonbaar zijn, aangezien er ook meldingen zijn van herstel zonder het gebruik van antiserum (6; eigen niet gepubliceerde ervaring GD). Dit is anders dan in humane gevallen, waarbij het gebruik van antiserum heeft geleid tot een duidelijke reductie van de mortaliteit (10, 27).

– Bij een meer geleidelijk verloop, waarbij de dieren na enkele dagen niet meer kunnen staan, zijn goede verpleging en verzorging de belangrijkste maatregelen. De verzorging moet natuurlijk bestaan uit het dagelijks verstrekken van vers voer en drinkwater en het regelmatig omleggen op een zachte ondergrond of weide om verdere spierbeschadiging te voorkomen. Toch moet de prognose van dieren die een intoxicatie doormaken, uiterst gereserveerd tot slecht worden gesteld. Het percentage volwassen dieren dat herstelt, is heel gering (< 10 procent, ervaring GD).

• *Preventie*

Preventieve maatregelen kunnen worden onderverdeeld in het voorkomen van opname van BONT en het actief immuniseren van runderen door middel van vaccinatie. Het voorkomen van opname van BONT wordt bereikt door grasland voor runderen niet te bemesten met kippenmest en te voorkomen dat er kadavers terechtkomen op het grasland of in de kuil. Tevens moet men kuil van goede

kwaliteit voeren waarbij het ruw as-gehalte laag is (bijvoorbeeld < 105 tot 110).

Ook vaccinatie behoort tot de mogelijkheden. Er is echter in Nederland geen botulismevaccin geregistreerd voor runderen. Het CVI beschikt over een noodvoorraad botulismevaccin tegen BONT C en D. Hiervan kan men gebruik maken als er een sterke verdenking van botulisme bestaat en/of als de diagnose botulisme gesteld is. Het vaccin werkt echter niet therapeutisch en heeft pas veertien dagen na de tweede vaccinatie maximaal effect. Vaccinatie lijkt op basis van ervaring vanuit de praktijk een goede bescherming te geven tegen botulisme (5; eigen ervaring). Als er risicoverhogende factoren aanwezig zijn, zoals Freilandkippen, weegt een jaarlijkse vaccinatie wat kosten betreft op tegen de mogelijke schade als gevolg van een intoxicatie.

PATHOGENESE

De conclusie was dat de problemen op het bovengenoemde bedrijf zijn veroorzaakt door een intoxicatie met BONT. Naast runderen waren op dit bedrijf ook kippen aanwezig en kippen kunnen dragers zijn van *C. botulinum* in het maagdarmkanaal. In kadavers van kippen ontstaan anaerobe omstandigheden waardoor *C. botulinum* zich kan vermenigvuldigen en BONT kan produceren. Bij ontbinding van kadavers blijven de BONT actief en worden deze over een groter gebied verspreid. Dit kan plaatsvinden op het grasland, waardoor BONT rondom het kadaver worden verspreid, of in de kuil, waarbij het gedeelte rondom het kadaver wordt besmet. Als het rund de BONT opneemt passeren deze de mucosa van het maagdarmkanaal en komen zo via de circulatie terecht op de motorische eindplaten (16). Dit verschilt van de uit de literatuur bekende infant of viscerale botulisme, waarbij de BONT worden gevormd in het darmkanaal tijdens de vermeerdering van de bacterie (2). Deze vorm van botulisme is tot op heden nog niet onomstotelijk aangetoond bij het rund.

Bij diverse uitbraken van botulisme waar GD de afgelopen jaren bij betrokken is geweest, was op de bedrijven pluimvee aanwezig met uitloop, zogenaamde Freilandkippen. Deze bevinding komt overeen met gegevens uit de literatuur, waarbij beschreven is dat er heel vaak pluimvee aanwezig is (1, 17, 20, 26). Mede op basis van deze bevindingen kan men zich, gelet op de financiële en emotionele schade van een botulisme-intoxicatie, afvragen of niet op alle bedrijven waar zowel rundvee als pluimvee aanwezig is, onvoorwaardelijk een preventieve vaccinatie moet worden geadviseerd. Gezien het toch regelmatig (een tot twee keer per maand) voorkomen (en een geringe toename in België (11)) van botulisme, zou een stimulering vanuit de catastrofe- dan wel calamiteitenverzekering de veehouder kunnen prikkelen tot een preventieve vaccinatie over te gaan. Dit zou ook kunnen bijdragen aan een beperking van de financiële en emotionele schade. Aangezien contaminatie van weiden rondom de eigen percelen niet uitgesloten is, zou men ook vaccinatie van bedrijven in de directe nabijheid (binnen een diameter van 500 tot 1000 meter)

kunnen overwegen. Daarnaast kunnen runderen die geweid worden op plaatsen waar verzameltinnen met pluimveeafval aan de weg staan en worden geleegd, risico lopen als kleine roofdieren zoals bunzings en vosjes kadavers van kippen over het grasland verslepen.

DISCUSSIE

Voor zover bekend is de hier beschreven casus van botulisme een van de grootste in West-Europa ooit, met zeer ernstige economische en emotionele gevolgen voor de veehouder. Als we ervan uitgaan dat de klinische klachten in 2007 ook het gevolg waren van een botulisme-intoxicatie, was de ontwikkeling in die periode mogelijk het gevolg van een combinatie van tunnelvisie (gerelateerd aan het gebruik van de op dat moment heersende BTV-epidemie om een groot aantal problemen te verklaren) en de problemen om de diagnose botulisme rond te krijgen. Tunnelvisie is hierbij gedefinieerd als: "Een vernauwing van het gezichtsveld waarbinnen scherpe waarneming mogelijk is, het bezien van alle aanwijzingen vanuit één als juist aangenomen hypothese, waardoor andere verklaringen over het hoofd worden gezien" (21). De diagnose botulisme had in die periode waarschijnlijk alleen kunnen worden gesteld op basis van meer (uitgebreid) postmortaal onderzoek van acute patiënten. Dit is mogelijk niet gebeurd vanwege het stoppen van de klinische klachten (aan het einde van het weideseizoen 2007), het uitbetalen door de verzekering op basis van het relateren van de klachten aan BTV8 en de pathologische diagnoses.

Gelukkig is de schade bij een intoxicatie op basis van botulisme in de meeste gevallen geringer dan bij de hier beschreven casus het geval was en blijft deze doorgaans beperkt tot enkele dode dieren. De omvang van de schade wordt onder andere bepaald door de mate van contaminatie van het voer of de omgeving, de hoeveelheid aanwezig en opgenomen BONT, de genomen managementmaatregelen (bijvoorbeeld opstallen of ander voer beschikbaar stellen) en de snelheid waarmee de diagnose kan worden gesteld. Het stellen een diagnose in deze casus in 2007 werd ernstig gehinderd door de BTV-epidemie van dat moment en de daarbij horende problematiek in Nederland en de aanwezigheid van pathologische bevindingen bij eind 2007 aangeboden dieren die de verschijnselen/plotselinge dood konden verklaren. Bovendien verliep het onderzoek naar BONT in zowel sectiemateriaal als in bloed negatief. In 2008 pasten de symptomatologie, de pathologie en de laboratoriumdiagnostiek wél volledig bij het beeld van botulisme: een groter aantal dieren tegelijkertijd; typische symptomen en geen andere aanwijsbare oorzaak; bij sectie geen orgaanafwijkingen die verschijnselen en/of sterfte konden verklaren; en een negatief onderzoek naar zware metalen.

Bij een verdenking van botulisme kan een negatieve sectie (geen oorzaak voor klinische symptomen of doodsoorzaak aan te geven) worden beschouwd als ondersteuning van de waarschijnlijkheidsdiagnose. Vervolgens werd bij onderzoek bij het cvi bij twee dieren

BONT aangetoond in de afgehevelde pensvloei-stof. Ook de lever en de darminhoud zijn geschikt voor het aantonen van toxinen (18).

Het is opmerkelijk dat twee jonge dieren op dit bedrijf na een periode van liggen van drie tot vier weken volledig herstelden. Een vergelijkbare ervaring is bekend uit de literatuur (6) en eigen ervaring van de GD (bij kalveren). In beide casussen waarbij de GD betrokken was, kregen deze jonge dieren antiserum toegediend. Aan de andere kant lijkt toepassing van antiserum bij dieren die langer dan een dag klinische symptomen vertonen, niet erg zinvol, gezien de korte periode van toxinemie (18). Over de redenen van het herstel juist bij kalveren kan alleen maar worden gespeculeerd, aangezien niet alle factoren en omstandigheden nader zijn onderzocht. (Kalveren hebben een lager metabool lichaamsgewicht en reageren daardoor mogelijk gunstig op een kleinere hoeveelheid toegediend antiserum. Het is ook mogelijk dat de opname van het BONT minder was en/of andere factoren een rol speelden.) De beschrijving van een casus in de literatuur waarbij herstel optrad, meldde niets over de toepassing van antiserum.

Zoals in verschillende andere casussen (7, 20, 30) is ook in dit geval de bron van het BONT niet gevonden. Er is een uitgebreide inspectie van de weiden van de melkkoeien uitgevoerd en de maïssilage is onderzocht. Een drinkpoel waar de koeien regelmatig uit dronken, is niet onderzocht, aangezien deze op het moment van bedrijfsbezoek door de GD nagenoeg was ingedroogd door het warme weer. Mogelijke andere verklaringen voor het niet vinden van de bron zijn:

- het gecontamineerde gedeelte van de kuil was opgevoerd;
- het gecontamineerde gedeelte van de weide (inclusief kadaver) was leeggegeten door melkkoeien;
- het gecontamineerde gedeelte van de weide werd gemist; op 2,5 hectare weidegrond is dat niet onmogelijk;
- het BONT was met het opdrogen van de waterpoel 'verdwenen'.

Terwijl er in België aanwijzingen zijn voor een geringe toename van het aantal meldingen van botulisme (11) lijkt er in ons land op grond van meldingen bij GD-veekijker en voor onderzoek aangeboden materiaal bij het cvi geen aanwijzing te zijn voor een toename van dit beeld (normaal 20 tot 25 meldingen per jaar). Wel kunnen de omvang van de uitbraken (en de financiële gevolgen ervan) toenemen door de toename van de omvang van de bedrijven (gemiddeld aantal melkkoeien per bedrijf neemt toe). Aangezien er vaak een relatie is met pluimvee op het bedrijf of in de directe nabijheid (7, 20, 26, 30; eigen waarneming) kan preventieve vaccinatie op deze bedrijven zeer wel worden overwogen. In Israël heeft men ruime praktijkervaring opgedaan met vaccinatie tegen type D; men heeft daar gekeken naar serumtiters (ELISA) en bescherming na blootstelling aan lethaal BONT type D na een tweevoudige vaccinatie met vier weken tussentijd

(28). Andere aanbevolen preventieve maatregelen voor bedrijven waar pluimvee wordt gehouden of pluimveemest wordt verwerkt, zijn:

- mest opslaan in afgesloten containers of silo's, die niet toegankelijk zijn voor roofvogels, dan wel roofdieren zoals vossen, nertsen en dergelijke;
- mestopslag zover mogelijk verwijderd houden van rundvee;
- gebruikte machinerie voor pluimvee en rundvee gescheiden houden of zeer grondig reinigen (met name banden) voor gebruik bij rundvee;
- de huisvesting van de kippen op het moment van leegstand ontsmetten met formaline 10 procent, om de infectiedruk te beperken;
- pluimveemest uitsluitend toepassen op bouwland en dan direct onderploegen, om versleep van restanten door roofvogels te vermijden.

Het optreden van botulisme op rundveebedrijven lijkt slechts beperkt risico's op te leveren voor de volksgezondheid, aangezien er geen humane gevallen van botulisme type C/D bekend zijn. Bovendien mogen liggende of schijnbaar zieke dieren niet voor de slacht worden aangeboden (15). De mens is echter wel zeer gevoelig voor type A, B, E en F, waarbij type B een aantal (drie) malen is aangetoond (4, 19). Hoewel type B-intoxicatie een afwijkend klinisch beeld geeft ten opzichte van type C of D, is nadere diagnostiek met typering van de *BONT* bij intoxicatiegevallen zeer gewenst. Dit zou vanuit volksgezondheidsperspectief meer moeten worden gestimuleerd om verdere risico's voor de volksgezondheid in te perken.

LITERATUUR

1. Bertels G. Kuikenmest als oorzaak van rundersterfte op de weide door *Clostridium botulinum* type D toxine. *VI Diergeneeskd Tijdschr* 1989; 58: 81-83.
2. Böhm H, Neufeld B and Gessler F. Botulinum neurotoxin type B in milk from a cow affected by visceral botulism. *Vet J* 2005; 169: 124-125.
3. Braun U, Feige K, Schweizer G and Pospischil A. Clinical findings and treatment of 30 cattle with botulism. *Vet Rec* 2005; 156: 438-441.
4. Breukink HJ, Wagenaar G, Wensing Th, Notermans S en Poulos, P.W. Voedselvergiftiging bij runderen veroorzaakt door het eten van bierbostel besmet met *Clostridium botulinum* type B. *Tijdschr Diergeneeskd* 1978; 103: 303-311.
5. Bruckstein S and Tromp AM. Food poisoning in three family dairy herds associated with *Clostridium botulinum* type B. www.isrvma.org. 2001; Vol. 56.
6. Cammack J. Recovery from botulism. *Vet Rec* 2007; 161: 175.
7. Cobb SP, Hogg RA, Challoner DJ, Brett MM, Livesey CT, Sharpe RT, and Jones, TO. Suspected botulism in dairy cows and its implications for the safety of human food. *Vet Rec* 2002; 150: 5-8.
8. Cornelisse JL. Bacteriële ziekten en mycotische aandoeningen. *Wet. Uitgeverij Bunge, Utrecht*. 1988: 167-171.
9. Cebra C, Loneragan G and Gould D. Polioencephalomalacie (Cerebrocortical Necrosis) In: Smith BP, Large Animal Internal Medicine, Uitg. Mosby Elsevier, St Louis Missouri, VS. 2008: 1021-1026.
10. Dembek ZF, Smith LA and Rusnak JM. Botulism: cause, effects, diagnosis, clinical and laboratory identification, and treatment modalities. *Dis. Med. Public Health Prep* 2007; 2: 122-134.
11. Deprez P and Goderis M. Botulisme bij runderen: een toenemend probleem. *VI Diergeneeskd Tijdschr*, 2008; 78: 90-91.
12. Divers TJ, Bartholomew RC, Messick JB, Whitlock RH and Sweeny RW. *Clostridium botulinum* type B toxicosis in a herd of cattle and a group of mules. *J Am Vet Med Assoc* 1986; 188: 382-386.
13. Galey FD, Terra R, Walker R, Adaska J, Etchebarne MA, Puschner B, Fisher E, Whitlock RH, Roche T, Willoughby D and Tor E. Type C botulism in dairy cattle from feed contaminated with a dead cat. *J Vet Diagn Invest* 2000; 12: 204-209.
14. George LW. Listeriosis (Circling disease; Silage disease; Listeria monocytogenes infection). In: Smith, B.P, Large Animal Internal Medicine, Uitg. Mosby Elsevier, St Louis Missouri, vs. 2008: 1045-1048.
15. Groot H de en Hooijer G. Transport van dieren en noodslachting: hoe luiden de regels. *Tijdschr Diergeneeskd* 2008; 133: 244-248.
16. Haagsma J. De etiologie en epidemiologie van botulismus bij watervogels in Nederland. *Proefschrift Universiteit Utrecht* 1973.
17. Haagsma J en ter Laak EA. Eerste geval van botulismus type D bij runderen in Nederland vastgesteld. *Tijdschr Diergeneeskd* 1979; 104: 609-613.
18. Haagsma J. Botulisme bij runderen, een overzicht. *Tijdschr Diergeneeskd* 1991; 116: 663-669.
19. Haagsma J, Haesebrouck F, Devriese L, Bertels G. An outbreak of botulism type B in horses. *Vet Rec* 1990; 127: 206.
20. Huffel X van, Gardoen S, Vanholme L, Imberechts H, Dierick K, Debevere J, Daube G, Herman L, Deprez P, Haesebrouck F. (Verdenking van) botulisme bij melkvee: voedsel- veiligheidsaspecten en maatregelen. *VI Diergeneeskd Tijdschr* 2008; 77: 81-89.
21. <http://nl.wikipedia.org/wiki/Tunnelvisie>.
22. Lindström M and Korkela H. Laboratory diagnostics of botulism. *Clin Microbiology Rev* 2006; 19: 298-314.
23. Martin S. *Clostridium botulinum* type D intoxication in a dairy herd into Ontario. *Cann Vet J* 2003; 44: 493-495.
24. Moeller RB Jr, Puschner B, Walker RL, Roche T, Galey FD, Cullor JS and Ardans AA. Determination of the median toxic dose of type C botulinum toxin in lactating dairy cows. *J Vet Diagn Invest* 2003; 15: 523-526.
25. Notermans S, Breukink HJ, Wensing T and Wagenaar G. Incidence of *Clostridium botulinum* in the rumen contents and faeces of cattle fed brewers' grains naturally contaminated with *Clostridium botulinum*. *Tijdschr Diergeneeskd* 1978; 103: 1327-1333.
26. 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 Rec* 2006; 159: 186-187.
27. Robinson RF and Nahata MC. Management of botulism. *Ann Pharmacother* 2003; 37: 127-131.
28. Steinman A, Chaffer M, Elad D and Shpigel NY. Quantitative analysis of levels of serum immunoglobulin G against Botulinum type D and association with protection in natural outbreaks of cattle botulism. *Clin Vacc Immunol* 2006; 13: 862-868.
29. Stöber M. Botulismus in Innere Medizin und Chirurgie de Rindes. 4th edn. Eds G. Dirksen, H-D Gründer, M. Stöber. Berlin Parey Verlag 2002: 1113-1119.
30. Wuyckhuise L van, Beekhuis, A, Breukers WA, en Dijk P van. Botulismevergiftiging bij runderen, een case, diagnostiek en preventie. *Tijdschr Diergeneeskd* 2002; 127: 422-424.

Artikel ingediend: 2 maart 2009

Artikel geaccepteerd: 19 mei 2009