

Twee paarden met neurologische verschijnselen: is botulisme in het spel?

H.I.J. Roest^{I,II}, C.M. de Bruijn^{III}, M.T.J.E. Picavet^{IV}, B. Prins^V,
D. Parmentier^{VI}, G.M.A.M. de Zwart^I, Y.E. Dijkstra^I en
F.G. van Zijderveld^I

.....

Tijdschr Diergeneeskd 2009; 790-795

Oorspronkelijk artikel

SAMENVATTING

De klinische verschijnselen, diagnostiek en therapie van botulisme bij paarden in Nederland worden beschreven aan de hand van twee patiënten en de resultaten van laboratoriumdiagnostiek van 2003 tot en met 2008. Tevens wordt een kort literatuuroverzicht gegeven. De voornaamste symptomen van botulisme bij paarden zijn tongparalyse, speekselen, slikproblemen, en parese en paralyse van spieren van het locomotieapparaat en digestieapparaat. De ernst van de symptomen varieert, afhankelijk van de hoeveelheid opgenomen botulineneurotoxine (BoNT). Voor het in een vroeg stadium diagnosticeren van botulisme is onderzoek van de craniale zenuwen belangrijk. De 'tongspanningstest' kan daarbij helpen. Uit de gegevens van de laboratoriumdiagnostiek blijkt dat *C. botulinum* type B de voornaamste oorzaak is. De laboratoriumdiagnostiek verloopt echter vaak negatief, veroorzaakt door te late monsternamen, de grote gevoeligheid van paarden voor botulineneurotoxine of door voorafgaande behandeling met antitoxine. De prognose is sterk afhankelijk van de hoeveelheid opgenomen toxine (BoNT). Voor een succesvolle therapie moet in een zo vroeg mogelijk stadium van de ziekte antiserum worden toegediend. Dit moet worden aangevuld met symptomatische behandeling. Botulisme is vooral een voedselintoxicatie, veroorzaakt door kadavers in het ruwvoer of door BoNT type B-vorming in slecht geconserveerd kuilgras. Door de opkomst van de individueel verpakte balen kuilgras als ruwvoer voor paarden is dit de voornaamste oorzaak van botulisme bij paarden. Zolang er in Nederland geen vaccin beschikbaar is, blijft de belangrijkste preventieve maatregel om botulisme bij paarden te voorkomen het voeren van goede kwaliteit kuilgras.

SUMMARY

Two horses with neurological symptoms: could this be Equine Botulism?

Symptoms, diagnosis and therapy of equine botulism are discussed by the presentation of two detailed reports of horses with neurological symptoms and the results of laboratory investigations over the period 2003-2008 in the Netherlands. In addition a brief summary of the available literature is presented. Prevailing symptoms of botulism in horses include paralysis of the tongue, salivation, dysphagia and paresis and paralysis of the skeletal muscles, as well as signs of colic. Symptoms and prognosis vary with the amount of botulinum neurotoxin (BoNT) involved. For early clinical diagnosis of botulism thorough investigation of the facial nerves is important, for instance by the use of the 'Tongue Stress Test'. Laboratory results often remain negative, probably due to the sampling time, the high sensitivity of horses for botulinum neurotoxin or treatment with antitoxins. Most clinical cases in horses are caused by botulinum neurotoxin B (BoNT/B). For therapy to be successful antiserum needs to be administered in the earliest possible stage of the disease and this should be supported by symptomatic therapy. Botulism is a feed-related intoxication caused by either carcasses in the roughage or BoNT/B production after poor conservation of grass silage. This is the main source of botulism in horses due to the popularity of individually packed grass silage as feed for horses. As long as no vaccine is available in the Netherlands quality control of silage and haylage is strictly recommended in order to reduce the risk of botulism in horses.

INLEIDING

Botulisme is een intoxicatie die wordt veroorzaakt door toxines gevormd door de bacterie *Clostridium botulinum*. De ziekte komt voor bij zowel mensen als dieren (1-3). Aan de hand van twee verdachte cases en een overzicht van de laboratoriumdiagnostiek, uitgevoerd door het Centraal Veterinair Instituut van Wageningen UR (CVI) in de periode van 2003 tot en met 2008, geven wij een overzicht van het voorkomen van botulisme bij het paard in Nederland.

TWEE PRAKTIJKGEVALLEN

Casus 1

Een vijfjarige pony die niet goed kon slikken, had al vijf dagen niet gegeten en gedronken. Een week eerder was een stalgenoot overleden met verlamningsverschijnselen. Bij de pony kwam voedsel uit de neus. De pony was flegmatisch en hoestte. De polsfrequentie was 72 slagen per minuut, de rectale temperatuur was 37,7 graden Celsius. Het dier was gedeeltelijk verlamd aan alle vier de benen (tetraparese) en had een slappe staart. Bij rectaal onderzoek bleek de mest ingedroogd te zijn. Bij onderzoek van de craniale zenuwen bleek de tong paretisch (foto 1) maar

I Divisie Bacteriologie en rse's, Centraal Veterinair Instituut van Wageningen UR, Lelystad, Nederland.

II Correspondentie: Hendrik-Jan Roest, cv1, Edelhertweg 15, 8219 PH, Lelystad, hendrikjan.roest@wur.nl.

III Dierenkliniek Wolvega, Wolvega, Nederland.

IV Dierenkliniek de Bosdreef, Moerbeke-Waas, België.

V Dierenkliniek Noord-Nederland, Veendam, Nederland.

VI Dierenartsenpraktijk Parmentier, Schilde, België.

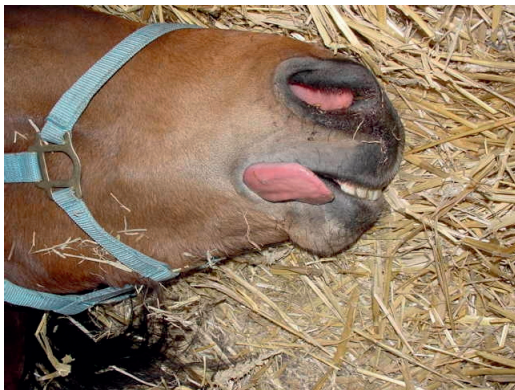


Foto 1. Casus 1, parese van de tong. (Foto: Marco de Bruijn)

dit onderzoek leverde verder geen bijzonderheden op. Tijdens endoscopisch onderzoek van de keel slikte de pony niet en was er sprake van een dorsale verplaatsing van het zachte verhemelte. In de trachea waren voedselresten zichtbaar. De oesofagus was atonisch en had een verminderde motiliteit (verdenking van dysfagie). Een haematocriet van 39 procent en een ureumgehalte van 3,2 millimol per liter (mmol/l) duiden op een geringe uitdroging. De pony werd behandeld met kanamycine (4000 IU/kg sid), penicilline (20.000 IU/kg sid) en met 8 liter water en 2 liter paraffine per neussonde en later nogmaals met 8 liter elektrolytenoplossing. Samengevat vielen vooral de tetraparese, dysfagie, tongparalyse en verminderde motiliteit van het maagdarmkanaal op. De differentiële diagnose bestond uit: 1. botulisme, 2. equine herpesvirus myeloencephalopathie, 3. listeriose en 4. hersenstamlaesie.

Op dag 2 kwam het dier niet meer overeind. Omdat de klinische situatie duidelijk was verslechterd, werd het dier in overleg met de eigenaar geëuthanaseerd. Er werd geen sectie verricht. Kuilgras, serum en mest werden opgestuurd naar het CVI voor onderzoek op botulisme. Het bloedbuisje met serum bleek bij aankomst op het laboratorium niet meer geschikt voor onderzoek wegens breuk. In zowel het kuilgras als de mest werd de bacterie *C. botulinum* type B aangetoond (zie tabel 1).

	Monstertype	Uitslag		
		Botulinumtoxine	<i>C. botulinum</i> *	typering
casus 1	graskuil	-	+	<i>C. botulinum</i> type B
	faeces	-	+	<i>C. botulinum</i> type B
casus 2	graskuil	-	-	
	serum	-	-	
	faeces	-	-	
	dunnedarminhoud	-	-	
	dikkedarminhoud lever	-	-	

Tabel 1. Overzicht uitslagen van de botulismediagnostiek in casus 1 en casus 2.

- = niet aangetoond.

+ = aangetoond.

* = serum en organen worden niet onderzocht op *C. botulinum*.

Casus 2

Een vijfjarige warmbloed hengst met een lichaamsgewicht van 570 kilogram was sinds twee dagen suf en hoestte zo nu en dan. Bij klinisch onderzoek thuis had het paard een licht verhoogde rectale temperatuur van 38,0 graden Celsius en diepe palpatie van de larynx leverde een krachtige droge hoest op. Auscultatie van de thorax was normaal. Hij werd behandeld met acetylcysteïne (Lyso-mucil® 600 mg granulaat) oraal en een voedersupplement met aromatische olieën (Breatheze®, Foran). Een dag voor opname in de kliniek speekselde het dier en vlak voor opname trilde het dier ter hoogte van de voorhand. Drie dagen voor opname, één dag voor de eerste behandeling, werd een nieuwe 'batch' kuilgras aangebroken.

Bij klinische inspectie tijdens opname in de kliniek was het paard zeer rustig en liet hij zijn hoofd hangen. Tevens was het paard aan het speeksel en vertoonde het tremoren ter hoogte van de schouderpijpen. Bij klinisch onderzoek werden roze slijmvlies met een normale capillaire vullingstijd waargenomen, een normale huidturgor, een pols van 40 slagen per minuut, een normale ademhaling (frequentie 10/minuut) en een rectale temperatuur van 37,5 graden Celsius. Borborygmi waren verminderd in de vier kwadranten. Rectaal onderzoek leverde geen afwijkingen op. Bij endoscopisch onderzoek van de luchtwegen werden voedselresten tegen de farynxwand waargenomen, een folliculaire faryngitis graad 2, slappe farynxwanden, en voedselpartikels en speeksel proximaal in de trachea. De eigenaar kreeg het advies geen kuilgras meer te voeren en het paard werd opgenomen. De hengst werd behandeld met de breed-spectrumantibioticacombinatie gentamycine (3750 mg IV sid, Emdogent®, Ecuphar) en benzylpenicilline natrium (10x106 IU, IV qid, Kela). Tevens werd de NSAID flunixinemeglumine (1350 mg IV sid, Schering-Plough) toegediend. Gezien de dysfagie en het daarbij horende risico op aspiratiepneumonie werd het paard via een neus-slokdarmsonde gevoed met een enterale voedingsformule (Sanequi Recovery Starter). Tevens werd intraveneus 75 milliliter antiserum tegen BoNT type B, C en D (CVI, Lelystad) toegediend. Tijdens de hospitalisatieperiode werd het paard steeds zwakker en bleef hij steeds langer liggen. Op dag drie werd opgemerkt dat de hengst niet meer spontaan urineerde en bij rectaal onderzoek werd een strak gespannen, sterk vergrote urineblaas gepalpeerd. Dagelijks werd de urineblaas verschillende malen op steriele wijze gesondeerd om de urine af te hevelen. Vanaf dag vijf werden naar behoefte intraveneus (polyurethaan catheter 14G 9 cm, Mila) kristallijne infuusvloeistoffen toegediend met toevoeging van calcium (Calcii borogluconas®, Eurovet) en kalium (Kalii Chloridum 14,9%, B. Braun). Op dag zeven werd thromboflebitis van de rechter jugulaire vene vastgesteld.

Samenvattend waren de belangrijkste symptomen moeilijk slikken, speeksel, verminderde motiliteit van het maagdarmkanaal en tremoren ter hoogte van de voorhand. Botulisme werd als de meest waarschijnlijke

diagnose verondersteld. Voor verdere diagnostiek werden serum en kuilvoer en later mest voor onderzoek aangeboden aan het CVI (tabel 1).

Ondanks de intensieve behandeling overleed het paard zeven dagen na opname. Bij sectie werden een goede voeding- en hydratietoestand waargenomen, een katarrhale enteritis, ileus, een milde impactie van het colon en een algemeen shockbeeld, zonder afwijkingen aan het zenuwstelsel. De lever en de inhoud van de dunne en dikke darm werden naar het CVI opgestuurd voor laboratoriumdiagnostiek op botulisme (tabel 1). Al het laboratoriumonderzoek bleek negatief zodat de waarschijnlijkheidsdiagnose botulisme niet kon worden bevestigd.

OVERZICHT UITSLAGEN BOTULISMEDIAGNOSTIEK BIJ HET PAARD VAN 2003 TOT EN MET 2008

Om inzicht te geven in het voorkomen van botulisme bij paarden in Nederland zijn in tabel 2 de resultaten samengevat van het botulismelaboratoriumonderzoek van monsters afkomstig van paarden verdacht van botulisme over de periode van 2003 tot en met 2008. In totaal heeft het CVI 34 monsters van 14 paarden onderzocht. Bij vier monsters afkomstig van drie paarden was de uitslag positief. Eénmaal werd in serum botulineneurotoxine type B (BoNT/B) aangetoond en in de drie overige gevallen werd de bacterie *C. botulinum* type B aangetoond (tabel 3). Alle monsters, bestaande uit serum, organen (vooral lever), maaginhoud, darminhoud, feces, maïskuil, graskuil en slotwater, werden op de aanwezigheid van botulineneurotoxine onderzocht door middel van de muisbioassay (1, 4, 5). Kuilgras, darminhoud en feces werden daarnaast ook onderzocht op de aanwezigheid van *C. botulinum* door middel van het aantonen van de toxines die worden gevormd tijdens het kweken van *C. botulinum* (1). Karakterisering van botulineneurotoxines gebeurde door middel van een neutralisatietest met behulp van specifieke antisera tegen de verschillende botulineneurotoxinetypen.

KORT LITERATUUROVERZICHT

Botulisme bij paarden is in België voor het eerst beschreven door Geurden et al. in 1942 (6) en in Nederland door Cysouw en Tesink in 1968 (7). De verwekker, *Clostridium botulinum*, is een gram-positieve, strikt anaerobe, exotoxines- en sporenvormende staafvormige bacterie. De bacterie komt voor in de grond en in het maagdarmkanaal van vogels en zoogdieren (1, 2, 8). Op basis van de antigene eigenschappen van de toxines worden binnen de soort *C. botulinum* zes typen onderscheiden: A, B, C, D, E en F. Daarnaast kan ook *C. butyricum* het E-toxine (BoNT/E) produceren en *C. baratii* het F-toxine (BoNT/F). *C. argenti-*

nense produceert een toxine type G (BoNT/G), dat nauwelijks pathogeen is. De mens is gevoelig voor de BoNT-typen A, B, E en F. Vogels zijn gevoelig voor BoNT/C en landbouwhuisdieren, inclusief het paard, zijn gevoelig voor BoNT-typen A, B, C en D (1, 2). Toxineproductie vindt plaats in een eiwitrijk milieu onder anaerobe omstandigheden, bij een groeitemperatuur tussen de 25 en 37 graden Celsius en een pH-optimum tussen 7 en 7,6.

Alle toxines van *C. botulinum* hebben een vergelijkbaar werkingsmechanisme. Het zijn neurotoxines die het vrijkomen van acetylcholine in cholinerge zenuwuiteinden verhinderen. Deze cholinerge zenuwuiteinden komen voor in de motorische eindplaat, waar de prikkeloverdracht van zenuw naar dwarsgestreepte spieren plaatsvindt; in de parasympatische eindplaat, waar de prikkeloverdracht van zenuw naar gladde spieren plaatsvindt; in sommige ganglia van het sympatische deel van het zenuwstelsel en in de bijnieren (9). De gevolgen van de inwerking van de BoNT op de cholinerge zenuwuiteinden zijn parese en paralyse van de dwarsgestreepte musculatuur en de gladde musculatuur van het maag-darmkanaal en de urinewegen.

Botulisme wordt in verreweg de meeste gevallen veroorzaakt door orale opname van BoNT dat is gevormd in voedsel (2, 10). Voedselintoxicatie bij paarden veroorzaakt door BoNT/C en D wordt daarbij geassocieerd met karkassen van wild, katten of pluimvee in het hooi of kuilgras. Het BoNT kan daarbij zeer lokaal in het voer aanwezig zijn zodat botulisme beperkt kan blijven tot één individueel geval. Intoxicatie door BoNT/B wordt geassocieerd met slecht geconserveerd kuilgras. Sinds kuilgras wordt gebruikt dat wordt verpakt in kleine balen, komt deze vorm van botulisme vaker voor (11). Naast deze voedselintoxicaties kan botulisme ook ontstaan door proliferatie van *C. botulinum* in het lichaam waarbij toxineproductie plaatsvindt, de zogenaamde toxico-infectie. Hierbij handhaaft *C. botulinum* zich op zuurstofarme plaatsen in het lichaam en produceert toxines die via de circulatie de motorische eindplaat bereiken (2, 10).

Bij het paard kunnen drie vormen van toxico-infectie worden onderscheiden. De eerste is wondbotulisme, waarbij diepe (steek)wonden geïnfecteerd raken met *C. botulinum* (12). De tweede is het 'shaker foal syndrome', waarbij *C. botulinum* de darm koloniseert of zich vermenigvuldigt in necrotisch weefsel (navel) en BoNT produceert (9, 13). De derde is Equine grass sickness (EGS), dat mogelijk een vorm is van toxico-infectie met *C. botulinum* (14-16). EGS of equine dysautonomia is een disfunctie van het maag-darmkanaal als gevolg van degeneratie van het autonome zenuwstelsel van de darmen, in het bijzonder van het ileum. De opvallendste klinische verschijnselen van EGS zijn een milde koliek met een verminderde darmmotiliteit, verhoogde polsfrequentie, tremoren van de schouder- en flankmusculatuur, snuivende ademhaling, zweten ter hoogte van de hals en slikproblemen. In tegenstelling tot andere vormen van botulisme kan bij EGS een immuunrespons tegen BoNT worden aangetoond.

	aantal onderzocht	aantal positief	% positief
paarden	14	3	21
monsters	34	4	12

Tabel 2. Overzicht van de resultaten van de botulismediagnostiek bij paarden verdacht van botulisme in Nederland tussen 2003 en 2008.

monstertype	uitslag	opmerking
serum	toxinetype B	
graskuil	<i>C. botulinum</i> type B	casus 1
faeces	<i>C. botulinum</i> type B	casus 1
maaginhoud	<i>C. botulinum</i> type B	

Tabel 3: Overzicht van de positieve resultaten van de botulismediagnostiek bij paarden verdacht van botulisme in Nederland tussen 2003 en 2008.

DISCUSSIE

Klinisch beeld

Het klinische beeld van de twee gepresenteerde cases kwam sterk overeen. Hoewel het eerste begin van de ziekte bij beide gevallen niet heel nauwkeurig is omschreven, traden aanvankelijk slikproblemen en speekselen op de voorgrond. Dit werd gevolgd door spiertrillingen van de voorhand en paralyse. Beide paarden konden nog staan en lopen toen ze werden aangeboden aan de klinieken. Bij endoscopisch onderzoek van de keel werden de slikbezwaren bevestigd door dorsale verplaatsing van het zachte verhemelte, voedselresten in de trachea, een atonische oesofagus met een verminderde motiliteit (casus 1), voedselresten tegen de farynxwand, speeksel in de trachea en slappe wanden van de farynx (casus 2). Ook werd in beide gevallen een verminderde motiliteit van het maag-darmkanaal waargenomen. Verlammingen aan alle benen (tetraparalyse), waardoor de dieren niet meer konden staan, traden pas op in een wat later stadium. Het paard in casus 2 werd intensief behandeld. Dit verlengde de overlevingsduur, waardoor de symptomen van botulisme zich konden uitbreiden naar de blaas. Door blaasparalyse raakte de blaas overvuld zodat manuele lediging noodzakelijk was.

De hier beschreven symptomen komen in grote lijnen overeen met wat Haesebrouck et al. en Ricketts et al. beschreven bij uitbraken van botulisme veroorzaakt door BoNT/B bij paarden; symptomen van de digestietractus traden daarbij op de voorgrond, gevolgd door spierzwakte (17, 18). BoNT/C veroorzaakt vergelijkbare symptomen. Cijssouw et al. beschreven een intoxicatie met BoNT/C, waarbij vooral tetraparalyse op de voorgrond trad, naast koliekverschijnselen en farynxparalyse (7). Een iets recentere beschrijving van een BoNT/C intoxicatie werd gegeven door Heath et al., waarbij dysfagie als eerste op de voorgrond trad naast verminderde motiliteit van het maag-darmkanaal, tremoren, tetraparese en tetraparalyse. Ook werd bij alle betrokken paarden melding gemaakt van dysurie en een overvulde blaas (19). Bij een door Galej beschreven BoNT/A-intoxicatie bij een paard kwamen symptomen van de digestietractus voor, naast parese en paralyse van de extremiteiten (9).

De ernst van de symptomen kan sterk variëren, afhankelijk van de hoeveelheid opgenomen toxine (11). Een verminderde tonus van de tong en geringe dysfagie zijn de eerste symptomen, en bij een geringe hoeveelheid opgenomen BoNT de enige. Bij een ernstiger verloop van botulisme wordt de dysfagie compleet, treden tremoren op van de schouder- en flankmusculatuur, gevolgd door tetraparese en tetraparalyse. In dit verloop neemt de

motiliteit van het maag-darmkanaal af en kan koliek optreden. Symptomen treden altijd symmetrisch op. Op grond van de klinische symptomen kan geen onderscheid worden gemaakt tussen de verschillende BoNT-typen.

Differentiële diagnose en diagnostiek

De differentiële diagnose bij de hier gepresenteerde casussen kan, naast botulisme, bestaan uit lood- of kwikvergiftiging, mycotoxine-intoxicatie, listeriose en equine herpesvirus myeloencephalopathie (EHM) (9, 18, 20). Nader onderzoek naar deze mogelijkheden heeft echter niet plaatsgevonden, terwijl de diagnose botulisme juist wordt gesteld op het klinische beeld, aangevuld met laboratoriumdiagnostiek, waarbij de differentiële diagnoses worden uitgesloten. EHM staat vrij laag op de differentiële diagnoselijst omdat bij EHM paralyse van de tong en dysfagie zelden of nooit worden gezien.

Nauwkeurig onderzoek van de craniale zenuwen is belangrijk in de klinische diagnostiek van botulisme. Tongparalyse is een van de eerste symptomen van botulisme en is ook aanwezig bij milde vormen. De tong kan worden onderzocht door middel van de 'tongspanningstest' (11): met de ene arm wordt het hoofd omklemd en gefixeerd met de hand op het neusbeen, met de andere hand wordt de tong voorzichtig via het diastema naar buiten getrokken en losgelaten. Een gezond paard trekt de tong snel weer naar binnen (met enige variatie). Paarden met botulisme trekken de tong zeer langzaam of helemaal niet terug. Het is aan te raden bij het uitvoeren van de tongspanningstest handschoenen te dragen. Böhnelt et al. hebben recent BoNT en *C. botulinum* aangetoond in de tonsillen van onder andere paarden (21). Aangezien mensen ook gevoelig zijn voor BoNT/A en B, kan overdacht niet worden uitgesloten.

Ook mydriasis kan een eerste symptoom van botulisme zijn. De pupilreflex blijft bij botulisme lang aanwezig, maar is wel vertraagd (19).

De laboratoriumdiagnostiek bij van botulisme verdachte dieren verloopt vaak negatief (tabel 2) ondanks de hoge analytische sensitiviteit van de muisbioassay, die een toxineconcentratie van 20 tot 30 picogram toxine per milliliter kan aantonen (5). Over de periode 2003 tot 2008 gaf de diagnostiek bij het cv1 bij 79 procent van de verdachte gevallen een negatief resultaat, wat een lage diagnostische sensitiviteit suggereert. Galej geeft hiervoor als mogelijke verklaring een te late monsternamen (9). Het toxine is dan al vanuit het bloed gediffundeerd naar de neurale eindplaten, waardoor er wel symptomen zijn, maar het toxine niet meer kan worden aangetoond in het bloed. Ook lijken paarden veel gevoeliger te zijn voor het botulismetoxine dan muizen (22), waardoor de gevoeligheid van de muisbioassay in de diagnostiek van botulisme bij paarden tekortschiet. Als laatste kan monsternamen na behandeling met antiserum een negatief resultaat tot gevolg hebben. *C. botulinum* wordt slechts zelden aangetoond in feces van gezonde paarden (11).

In casus 1 kon zowel in de feces als in het kuilvoer *C. botulinum* type B worden aangetoond. Een aantal

auteurs geeft aan dat alleen het aantonen van het toxine in serum of organen de diagnose bevestigt (3, 9). Hoewel *C. botulinum*-bacteriën frequent voorkomen in het milieu en in het maag-darmkanaal van vogels en zoogdieren (1, 2, 8, 23), vonden wij dat monsters van feces en darminhoud van klinisch verdachte paarden vaak negatief zijn (tabel 2). Wij stellen daarom dat het aantonen van *C. botulinum* in zowel voer als maag-darmkanaal in combinatie met de typische klinische verschijnselen de diagnose botulisme bij paarden rechtvaardigt.

In casus 2 was het antiserum toegediend na afname van het serum voor onderzoek. De diagnostiek kon hierbij dus niet belemmerd zijn door de behandeling. De monsters van feces, darminhoud en lever voor diagnostiek werden echter wel genomen na behandeling met antiserum en antibiotica, waardoor een onterecht negatief resultaat kan zijn verkregen.

Behandeling

De prognose van botulisme is sterk afhankelijk van de hoeveelheid BoNT die is opgenomen. In milde gevallen kan herstel optreden in ongeveer twee tot drie weken, dit is de tijd die nodig is voor het herstel van de prikkelgeleiding in de motorische eindplaatjes (11). Bij ernstige gevallen van botulisme, waarbij binnen 24 tot 48 uur alle symptomen van botulisme aanwezig zijn, is de prognose slecht en is behandeling weinig succesvol. Paarden verdacht van botulisme moeten zo snel mogelijk worden behandeld met antiserum. Dit heeft alleen zin in een vroeg stadium, wanneer er nog circulerend toxine aanwezig is (2, 9, 17, 18). Als klinische symptomen aanwezig zijn, bevindt het toxine zich al ter hoogte van de zenuwuiteinden. Behandeling met antitoxines is dan vaak niet meer succesvol. Antiserum tegen toxine type C en D is in beperkte hoeveelheden beschikbaar bij het CVI. Dit is echter niet geregistreerd als diergeneesmiddel en kan alleen worden toegepast in noodsituaties. Als aanvulling moeten de vocht- en voedingstoestand op peil worden gehouden door middel van sondevoeding en infusen. Ook ondersteuning van het hoofd bij een lage hoofd-hals-houding vermindert complicaties van botulisme. Bij veulens met botulisme kan het succes van de behandeling aanmerkelijk worden vergroot door het toepassen van mechanische ventilatie (24).

Antibiotica kunnen worden toegepast in het geval van toxico-infecties met *C. botulinum* en om secundaire infecties te voorkomen. De in beide casussen gebruikte aminoglycosiden worden daarbij afgeraden (11). Aminoglycosiden worden bij hoge plasmaconcentraties in combinatie met anesthetica soms geassocieerd met spierzwakte. Het effect zou worden veroorzaakt door chelatatie van calcium en competitieve inhibitie van het vrijkomen van acetylcholine in de synapsen.

Internationaal worden twee vaccins geproduceerd voor botulisme bij paarden: één tegen BoNT/C en D en één tegen BoNT/B (13). Deze vaccins geven een goede bescherming tegen botulisme (11), maar zijn in Nederland niet geregistreerd. Het is moeilijk te zeggen of men in Neder-

land paarden preventief zou moeten vaccineren. Er zijn geen systematische gegevens bekend over het voorkomen van botulisme bij paarden in Nederland.

Vóórkomen van botulisme bij paarden in Nederland

Hoewel het laboratoriumonderzoek op botulisme bij verdachte paarden in het merendeel van de gevallen negatief verliep (tabel 1), achten wij het vanwege de lage gevoeligheid van de diagnostiek mogelijk dat een groter percentage botulisme heeft gehad. Het klinisch beeld van botulisme varieert sterk waardoor botulisme of niet wordt gediagnosticeerd of uitgebreide diagnostiek achterwege blijft vanwege het snelle, progressieve verloop van de ziekte. Goehring et al. maakten melding van uitbraken van botulisme bij paarden op vier bedrijven in 2001 en 2002 (25), maar verder zijn geen cijfers bekend van het voorkomen van botulisme in Nederland.

Intoxicatie door opname van het toxine type B lijkt de voornaamste oorzaak van botulisme bij paarden in Nederland en het ruwvoer de voornaamste bron. Het gebruik van individueel verpakte balen kuilgras speelt hierbij een rol. De kwaliteit van het kuilgras in deze balen kan sterk variëren doordat het conserveringsproces nadelig wordt beïnvloed doordat men het langer laat drogen in vergelijking met kuilgras voor rundvee en doordat de individueel verpakte balen gevoeliger zijn voor onzorgvuldige verpakking of beschadiging van het plastic. Tevens kan de hoeveelheid grond en dus de hoeveelheid *C. botulinum*-sporen per baal sterk variëren. Notermans et al. toonden aan dat *C. botulinum* type B in slecht geconserveerde graskuilen in staat is toxines te produceren (26). Slecht geconserveerde balen kuilgras verhogen zo het risico op botulisme bij paarden. Dit komt overeen met in de literatuur beschreven gevallen van botulisme type B bij paarden (17, 18). Zoals aangegeven, wordt BoNT/C en D-botulisme veroorzaakt door de aanwezigheid van kadavers in het ruwvoer (2, 9). Het voeren van kuilvoer van goede kwaliteit waarin geen kadavers zitten, is dus de voornaamste maatregel om botulisme bij paarden te voorkomen. Vaccinatie als preventieve maatregel kan een goede aanvulling zijn, maar is op dit moment niet mogelijk omdat er in Nederland geen botulismevaccins zijn geregistreerd voor toepassing bij paarden.

Er zijn geen gegevens bekend over het voorkomen van toxico-infecties van *C. botulinum* bij paarden in Nederland.

CONCLUSIE

De voornaamste oorzaak van botulisme bij paarden in Nederland is een voedselintoxicatie met BoNT/B gevormd in ruwvoer van slechte kwaliteit. Symptomen die op de voorgrond treden, zijn speekselen, dysfagie, parese van de tong, tremoren en parese/paralyse van met name de spieren van de voorhand en een verminderde motiliteit van het maag-darmkanaal. Nauwkeurig lichamenlijk onderzoek is belangrijk om de eerste symptomen van botulisme vast te stellen. Laboratoriumdiagnostiek kan de klinische diagnose bevestigen maar verloopt vaak negatief. Het succes van behandeling is sterk afhankelijk

van de hoeveelheid opgenomen BoNT en het stadium van de ziekte. De behandeling omvat de snelle toediening van antiserum en is aanvullend symptomatisch. Zolang paarden in Nederland niet tegen botulisme kunnen worden gevaccineerd, is de belangrijkste preventieve maatregel het voeren van een goede kwaliteit kuilvoer. Een kritische controle van individueel verpakte balen kuilvoer is hierbij van essentieel belang.

DANKBETUIGING

De diagnostiek en expertise op het gebied van botulisme wordt ondersteund vanuit het project 'Diagnostiek en instandhouding expertise van meldingsplichtige bacteriële ziekten en botulisme'. Dit project wordt gefinancierd door het ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit. De auteurs bedanken Tjeerd Kimman voor zijn commentaar en Frans Verburg voor het genereren van de gegevens van de laboratoriumdiagnostiek uit het Laboratorium Management en Informatie Systeem (LIMS) van het CVI.

LITERATUUR

- Haagsma J. De etiologie en epidemiologie van botulismus bij watervogels in Nederland [Proefschrift]. Rotterdam: Universiteit Utrecht; 1973.
- Smith LD. Botulism, the organism, its toxins, the disease. Springfield, Illinois, USA: Charles C Thomas, 1977.
- Coetzer JAW, Tustin RC, eds. Infectious Diseases of Livestock. second ed: Oxford University Press 2004.
- CDC CfDCaP. Botulism in the United States, 1899-1998. Handbook for epidemiologists, clinicians and laboratory workers. Atlanta, GA: Centres for Disease Control and Prevention, 1998.
- Lindstrom M and Korkeala H. Laboratory diagnostics of botulism. Clin Microbiol Rev 2006; 19 (2): 298-314.
- Geurden L, Thoonen J en Galmart J. Over enkele gevallen van botulisme bij paarden. Vlaams Diergeneeskd Tijdschr 1942; 11 (9-10): 157-168.
- Cijsouw CJ en Tesink J. Twee gevallen van botulisme bij het paard. Tijdschr Diergeneeskd 1969; 93 (94): 1547-1550.
- Notermans SH en Havelaar AH. [Botulism]. Tijdschr Diergeneeskd 1986; 111 (13): 634-638.
- Galey FD. Botulism in the horse. The Veterinary clinics of North America 2001; 17 (3): 579-588.
- Critchley EM. A comparison of human and animal botulism: a review. Journal of the Royal Society of Medicine 1991; 84 (5): 295-298.
- Whitlock RH and McAdams S. Equine Botulism. Clin Tech Equine Pract 2006; 5: 37-42.
- Bernard W, Divers TJ, Whitlock RH, Messick J and Tulleners E. Botulism as a sequel to open castration in a horse. J Am Vet Med Assoc 1987; 191 (1): 73-74.
- Frey J, Eberle S, Stahl C, Mazuet C, Popoff M, Schatzmann E, et al. Alternative vaccination against equine botulism (BoNT/C). Equine veterinary journal 2007; 39 (6): 516-520.
- Hunter LC, Miller JK and Poxton IR. The association of *Clostridium botulinum* type C with equine grass sickness: a toxicoinfection? Equine veterinary journal 1999; 31 (6): 492-499.
- McGorum BC, Kyles KW, Prince D, Hahn CN and Mayhew IG. Clinicopathological features consistent with both botulism and grass sickness in a foal. Vet Rec 2003; 152 (11): 334-336.
- Newton JR, Hedderson EJ, Adams VJ, McGorum BC, Proudman CJ and Wood JL. An epidemiological study of risk factors associated with the recurrence of equine grass sickness (dysautonomia) on previously affected premises. Equine veterinary journal 2004; 36 (2): 105-112.
- Haesebrouck F, Haagsma J, Devriese L, Bertels G en D'Hollander L. Een uitbraak van botulisme bij paarden met atypische symptomen. Vlaams Diergeneeskd Tijdschr 1990; 59: 234-236.
- Ricketts SW, Greet TR, Glyn PJ, Ginnett CD, McAllister EP, McCaig J, et al. Thirteen cases of botulism in horses fed big bale silage. Equine veterinary journal 1984; 16 (6): 515-518.
- Heath SE, Bell RJ, Chirino-Trejo M, Schuh JC and Harland RJ. Feedthrough dirt as a source of *Clostridium botulinum* type C intoxication in a group of farm horses. The Canadian veterinary journal 1990; 31 (1): 13-19.
- Goehring LS, van Maanen C and Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan MM. Neurological syndromes among horses in The Netherlands. A 5 year retrospective survey (1999-2004). Vet Quart 2005; 27 (1): 11-20.
- Bohnel H, Wagner C and Gessler F. Tonsils-place of botulinum toxin production: results of routine laboratory diagnosis in farm animals. Vet Microbiol 2008; 130 (3-4): 403-409.
- Kinde H, Bettley RL, Ardans A, Galey FD, Daft BM, Walker RL, et al. *Clostridium botulinum* type-C intoxication associated with consumption of processed alfalfa hay cubes in horses. J Am Vet Med Assoc 1991; 199 (6): 742-746.
- Notermans SH, Havelaar AH, Dufrenne JB and Oosterom J. Incidence of *Clostridium botulinum* on cattle farms. Tijdschr Diergeneeskd 1985; 110 (5): 175-180.
- Wilkins PA and Palmer JE. Mechanical ventilation in foals with botulism: 9 cases (1989-2002). Journal of veterinary internal medicine/ American College of Veterinary Internal Medicine 2003; 17 (5): 708-712.
- Goehring LS and Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan MM. Botulism in the horse: A real possibility in the Netherlands? Tijdschr Diergeneeskd 2002; 127 (3): 82-82.
- Notermans S, Kozaki S and Schothorst M van. Toxin production by *Clostridium botulinum* in grass. Appl Environ Microbiol 1979; 38 (5): 767-771.

Artikel ingediend: 5 maart 2009

Artikel geaccepteerd: 29 juni 2009