

Een oude bekende: Miltvuur in Nederland

M.G.J. KOENE¹, M. DE ROSA², M.A.H. SPIERENBURG², A. JACOBI³, H.I.J. ROEST¹

Samenvatting

In november 2013 werden tijdens grondwerkzaamheden in de uiterwaarden bij Nijmegen 'witte kuilen' met botresten aangetroffen. Dit duidt op miltvuur en afhandeling vond plaats volgens de daarvoor opgestelde richtlijnen. Monsters werden voor onderzoek gestuurd naar het nationale referentielaboratorium (Central Veterinary Institute, CVI). Laboratoriumonderzoek bevestigde de aanwezigheid van *Bacillus anthracis*. In dit artikel wordt een overzicht gegeven van miltvuur in Nederland. Het aantreffen van miltvuursporen in Nederlandse grond toont aan dat miltvuur nog steeds een reëel risico vormt voor de veehouderij, ondanks dat de laatste uitbraak bij dieren meer dan twintig jaar geleden plaatsvond.

Summary

In November 2013, bones covered with quicklime were discovered at a construction site near Nijmegen. According to regulations samples were sent to the national reference laboratory (Central Veterinary Institute, CVI), based on the suspicion of anthrax. Laboratory testing confirmed the presence of *Bacillus anthracis*. In this paper we present a historic overview of anthrax in the Netherlands. Despite absence of anthrax in animals in the Netherlands in the last two decades, the presence of *B. anthracis* spores in Dutch soil indicates that clinical anthrax in Dutch livestock might still be an actual risk.

Inleiding

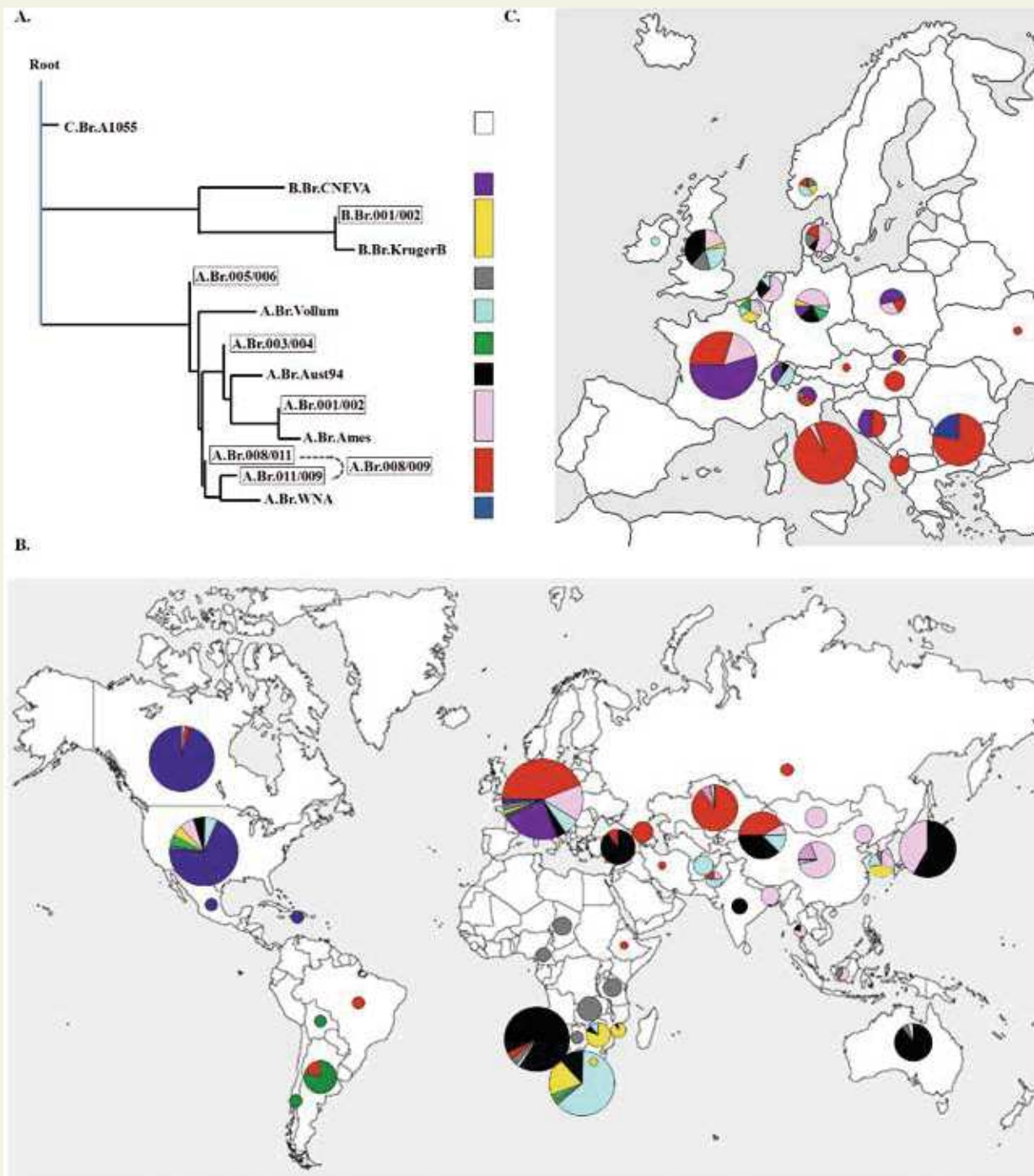
Op 21 november 2013 ontving het Incident en Crisiscentrum van de Nederlandse Voedsel en Warenautoriteit (NVIC) een melding van de vondst van zogenaamde 'witte kuilen'. Dit zijn plaatsen waar kadavers van dieren werden begraven en met ongebluste kalk overdekt om ziekmakende agentia en met name de miltvuurbacterie *Bacillus anthracis* onschadelijk te maken. Op dergelijke plekken werden vaak ook bomen geplant om te voorkomen dat restanten weer aan de oppervlakte zouden komen. Sinds de jaren twintig van de vorige eeuw ontstond de mogelijkheid kadavers naar een destructor af te voeren (in 1926 werd de voorloper van Rendac opgericht) en vanaf 1942 is het wettelijk verboden kadavers van vee te begraven.

De vondst van de witte kuil werd gedaan tijdens graafwerkzaamheden in het buitendijkse gebied van Lent bij Nijmegen. In het kader van 'Ruimte voor de rivier' wordt daar een nevengeul van de Waal aangelegd. Volgens het NVIC draaiboek en richtlijn van het Landelijk Infectieziekten Centrum (1) werden de graafactiviteiten gestopt en werden de witte kuilen ontoegankelijk gemaakt omdat een risico voor infectie met miltvuurbacteriën voor mensen niet kon worden uitgesloten. Een dierziektedeskundige van het NVIC constateerde ter plaatse dat het inderdaad ging om verschillende witte kuilen met resten van gestorven runderen. Monsters werden genomen en ingezonden naar het nationale referentie laboratorium, Central Veterinary Institute (CVI), onderdeel van Wageningen UR. *B. anthracis* werd aangetoond middels PCR uit kweekmateriaal. Helaas is het niet gelukt de bacteriestam uit het materiaal te isoleren voor verdere genotypering. De grond rondom de kuilen werd zorgvuldig afgegraven en afgevoerd ter destructie. Personeel betrokken bij de graafwerkzaamheden werd advies gegeven hoe (huid)antrax te voorkomen. Er werden geen gevallen bij mensen gemeld.

¹ **Afdeling Bacteriologie en TSE's**, Central Veterinary Institute of Wageningen University and Research Center (CVI), Edelhertweg 15, 8219 PH Lelystad.

² **NVWA Incident en Crisiscentrum (NVIC)**, Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit, Catharijnesingel 59, 3511 GG Utrecht.

³ **RIVM-Landelijke Coördinatie Infectieziektebestrijding**, Antonie van Leeuwenhoeklaan 9, 3720 BA Bilthoven.



Figuur 1. Overzicht van (historische) *B. anthracis* genotypen uit collecties van de verschillende landen. De Nederlandse stammen zijn voornamelijk geïsoleerd in de tweede helft van de vorige eeuw. Met toestemming overgenomen uit Derzelle, 2013.

Miltvuur is een (per)acute, vaak fatale infectieziekte bij dieren en mensen. Hoewel in principe alle zoogdieren besmet kunnen worden, treft de ziekte vooral (wilde en gedomesticeerde) herkauwers. Miltvuur bij herkauwers wordt gekenmerkt door plotselinge sterfte waarbij *B. anthracis* in het bloed en lichaamsvloeistoffen wordt aangetroffen. Een belangrijke eigenschap van deze bacterie is de vorming van sporen die uitzonderlijk resistent zijn

tegen hitte en indroging en daardoor jarenlang in de bodem kunnen overleven. Bij opname door een gastheer zullen sporen ontkiemen en zich gaan vermenigvuldigen. In eerste instantie in lymfoïde weefsels, later kan massale vermenigvuldigend optreden in het bloed. De letsels in de gastheer worden veroorzaakt door verschillende toxinen die door de bacterie worden gevormd, met oedeemvorming, necrose van endotheelcellen en bloedingen tot gevolg.

Wanneer de bacteriën vervolgens uit de gastheer vrijkomen, gaan ze onder invloed van zuurstofconcentraties in de lucht weer over in sporenvorm, waarna de cyclus zich kan herhalen (2). Karakteristiek bij runderen en schapen is een zeer sterk vergrote milt (vandaar de naam miltvuur). De naam antrax is afgeleid van de antracietkleurige zweer ter plaatse van de porte d'entrée bij de cutane vorm van antrax.

Verspreiding van miltvuur

Miltvuur komt wereldwijd voor. In Europa komt miltvuur bij dieren relatief vaak voor in landen rond de Middellandse zee en in Oost-Europa, zoals Griekenland, Italië, Albanië, Roemenië, en met name Turkije. In de meeste overige Europese landen komt miltvuur slechts sporadisch voor. Gevallen bij vee betreffen vrijwel altijd weidende dieren en zijn vaak gerelateerd aan grondwerkzaamheden in gebieden met een geschiedenis van miltvuur, zoals locaties waar aan miltvuur gestorven dieren zijn begraven of bijvoorbeeld voormalige leerlooierijen.

In het noordwesten van Europa werd Zweden in 2008 opgeschrikt door een uitbraak van miltvuur bij rundvee, nadat de ziekte gedurende decennia afwezig was geweest (3). Ook in 2011 en 2013 deden zich gevallen voor. Nog dichterbij, in Duitsland, is in juli 2012 een uitbraak geweest in Sachsen Anhalt en in april 2014 stierven op een zoogkoeienbedrijf nog vier dieren aan miltvuur (4).

Ook in Nederland kwam miltvuur voor. Lent, waar de bovengenoemde witte kuilen werden gevonden, kent een lange historie van miltvuur bij vee. Het laatste geval dateert uit november 1987 toen een rund dood werd aangetroffen in één van de uiterwaarden van de Waal tegenover Nijmegen. Volgens informatie van de toenmalige Rijksdienst voor de Keuring van Vee en Vlees (RVV) overleed op 8 februari 1987 door dezelfde oorzaak een vaars op stal die gevoerd was met kuilvoer uit deze uiterwaard. Eerder waren al in 1973, 1976 en 1982 op deze weiden enkele gevallen van miltvuur bekend. Op grond van oude notulen en krantenberichten gaan meldingen zelfs terug tot 1886 (persoonlijke mededeling Frans Mikx uit Lent).

Behalve in Lent, zijn in het verleden ook op andere plaatsen in Nederland miltvuuruitbraken voorgekomen. Op een veehouderij in Winsum (Groningen) werd gedurende 1991 een aantal gevallen geconstateerd onder blonde Aquitaine stieren, waaraan uiteindelijk negen dieren zijn gestorven (<http://www.digibron.nl/search/detail/012dfb505c17b580c7785c40/milt->

vuur-op-bedrijf-in-winum).

Dankzij het afvoeren en correct behandelen van kadavers en het gebruik van vaccins bij uitbraken komt miltvuur in Nederland vrijwel niet meer voor. Voor zover bekend heeft de laatste uitbraak bij vee in Nederland plaatsgevonden in 1993, in Velden (Limburg). Ook hier was sprake van graafwerkzaamheden op een rundveebedrijf. Deze casus leidde eveneens tot een humane besmetting. Mogelijk is er in 1994 nog sprake geweest van een miltvuurbesmetting, hiervan is echter geen officiële melding teruggevonden.

De afgelopen twintig jaar is ongeveer vijftwintig keer melding gemaakt van vondsten van botten tijdens grondwerkzaamheden. Behalve het aantreffen van witte kuilen kunnen er ook andere aanleidingen voor miltvuuronderzoek zijn. Voorbeelden hiervan zijn: illegale invoer in 2011 van een grote partij stro uit Turkije (5) en invoer van vlees afkomstig van een Slowaakse rundveehouderij waar naderhand miltvuur is vastgesteld, in oktober 2014 (www.nvwa.nl/txm-pub/files/?p_file_id=2207427). Behalve de hier beschreven casus werd echter in geen van de gevallen de verwekker van miltvuur aangetoond. Volgens de Gezondheids- en Welzijns Wet voor Dieren (GWWD) is miltvuur meldingsplichtig voor dierenartsen, dierenhouders en onderzoeksinstellingen voor alle diersoorten (inclusief wilde dieren). Bovendien is Nederland verplicht een door laboratoriumonderzoek bevestigd geval bij dieren te melden bij de wereld organisatie voor diergezondheid (OIE) (4).

Miltvuur bij de mens

Hoewel mensen relatief ongevoelig zijn, is deze infectie reeds lang bekend.

In Europa is de incidentie van miltvuur bij mensen in de loop van de twintigste eeuw drastisch gedaald. Tegenwoordig komt het slechts sporadisch voor en het treft dan meestal boeren of medewerkers in textiel- of wolfabrieken die in contact komen met besmette dieren of dierproducten (6). Eén van de meest opvallende gevallen in Europa betreft een uitbraak van miltvuur onder intraveneuze drugsgebruikers in Groot-Brittannië en Duitsland in 2009 tot 2010 met zeker 119 gevallen. De meest waarschijnlijke bron is gecontamineerde heroïne. Patiënten bleken te zijn besmet met een stam van *B. anthracis* die tot dan toe alleen in Turkije was aangetroffen. Achteraf bleek deze stam ook al te zijn aangetroffen bij een heroïnegebruiker in Noorwegen in 2000. Sindsdien is dezelfde stam nog een aantal maal gevonden in Duitsland,

Denemarken, Groot Brittannië en Frankrijk in 2012 en 2013, wat suggereert dat heroïne nog steeds een besmettingsbron vormt (6, 7).

In Nederland is miltvuur bij mensen uiterst zeldzaam. In totaal zijn sinds 1976 (datum waar de ziekte meldingsplichtig is gemaakt) zeven gevallen van humane antrax beschreven (1). Miltvuur is conform de Wet Publieke Gezondheid een meldingsplichtige ziekte groep C. Het laboratorium en de arts melden een patiënt met klinische klachten aan de GGD. Vervolgens wordt de melding doorgegeven aan de landelijke surveillance van meldingsplichtige ziekten van het RIVM. Het NVIC kan worden ingeschakeld voor bronopsporing wanneer de GGD een sterk vermoeden heeft dat de patiënt de infectie gekregen heeft door contact met (Nederlandse) dieren of dierlijke producten (kadavers, wol, haren, huiden, et cetera) (1).

B. anthracis staat hoog op de lijst van potentiële biologische wapens, ondanks het feit dat mensen relatief ongevoelig zijn voor miltvuur. Dit heeft te maken met de grote hoeveelheid infectieus materiaal waaraan mensen bij moedwillige besmetting kunnen worden blootgesteld. De poederbrieven die in 2001 in de Verenigde Staten zijn verstuurd laten dit zien. De miltvuursporen die bij het openmaken vrijkwamen leidden tot 22 besmettingen en eisten uiteindelijk 5 slachtoffers (<http://www.cdc.gov/anthrax/history/index.html>). Het ging hier ook om 'weaponized' materiaal; door het toevoegen van een statische lading gedroegen antraxsporen zich als een aerosol waardoor de verspreiding gemakkelijk verliep. Ook in Nederland werden hierna poederbrieven verzonden die in de eerste jaren door CVI op miltvuurbacteriën werden onderzocht en tegenwoordig door het Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM). Poederbrieven worden door hulpverleningsdiensten veilig verpakt aangeboden aan het RIVM-loket van het Landelijk Laboratorium Netwerk terreuraanslagen (LLN-ta), een groep laboratoria met een breed pallet aan diagnostische mogelijkheden. In Nederland is overigens nooit *B. anthracis* in de poederbrieven aange troffen.

Genotypering

Bij het vaststellen van een besmetting kunnen de gevonden pathogenen genetisch worden getypeerd om op deze manier de bron van besmetting te achterhalen. Op grond van de zogenoemde 'single nucleotide polymorphisms' (SNPs) markertyperingsmethode kan de populatiestructuur van *B. anthracis* worden onderverdeeld in een aantal afstammingslijnen. Figuur

1 geeft een overzicht van het voorkomen van de verschillende fylogenetische groepen in de wereld en in Europa, en is een afspiegeling van introducties van *B. anthracis* in het verleden (8). Zo is de koloniale handel van dierlijke producten uit Afrika en Zuidoost Azië terug te vinden in de genetische achtergrond van stammen in bepaalde landen. Dit komt overeen met antraxinfecties die terug te leiden waren tot geïmporteerde dierlijke producten uit deze gebieden in de negentiende en begin twintigste eeuw, zoals wol, huiden, beendermeel en scheerborstels (9). Nederlandse stammen, waarvan het genotype bekend is, behoren tot de subgroepen A.Br.001/002, A.Br.Aust94 en A. Br. Vollum. De A.Br.001/002 subgroep is waarschijnlijk oorspronkelijk afkomstig uit China (10). A.Br. Aust94 heeft zijn oorsprong in Azië (Turkije, Pakistan, India). Het is tevens het meest getypeerde type in Australië. Er wordt wel verondersteld dat antrax voor het eerst is geïntroduceerd in Australië in 1847 via gecontamineerde kunstmest met beendermeel afkomstig uit India [9]. De zogenaamde A. Br. Vollum stammen kennen een wereldwijde verspreiding die wordt toegeschreven aan de uitgebreide handel in kasjmierwol vanuit India (11).

Afhandeling verdenkingen

Wanneer bij het NVIC een melding van een miltvuurverdenking binnenkomt, treedt het 'Draaiboek afhandelen verdenking Miltvuur' in werking, waarin een aantal scenario's is verwerkt. Als er levende dieren verdacht worden, worden ze onderzocht door een specialistenteam gevormd door een dierenarts van de Gezondheidsdienst voor Dieren (GD), een dierziektedeskundige van het NVIC en de bedrijfsdierenarts. Indien miltvuur niet is uit te sluiten worden er bloedmonsters genomen, en/of in geval van een vers kadaver, een afgesneden oor, onder goed gebruik van persoonlijke beschermingsmiddelen en naar CVI gestuurd voor onderzoek. Bij antraxverdenkingen is het belangrijk dat de karkassen dicht blijven om te voorkomen dat de bacteriën sporen gaan vormen (dit proces wordt geïnduceerd door contact met zuurstof) en zo min mogelijk worden verplaatst, totdat antrax is uitgesloten. Voor de diagnostiek wordt gebruik gemaakt van de eigenschap van de bacterie een kapsel te vormen. Bloeduitstrijkjes worden na een McFadden of Raebiger kleuring onder de microscoop beoordeeld op de aanwezigheid van de karakteristieke kapsels (figuur 2). Behalve deze 'snelle' methode kan voor de diagnostiek gebruik worden gemaakt van kweek en/of PCR (2).

Naast monsters van dood aangetroffen dieren of dierlijke resten zoals die in de witte kuilen werden aangetroffen, kunnen ook verdenkingen ontstaan bij de keuring van dieren in het slachthuis, maar dit komt zelden voor. In alle gevallen worden strikte hygiënemaatregelen genomen om de besmetting van andere dieren, mensen en omgeving te voorkomen. Veehouderijen mogen geen dieren, dierlijke producten en veevoer verplaatsen tot de verdacht status opgeheven wordt.

In het geval van een miltvuuruitbraak wordt onmiddellijk contactonderzoek, opwaarts en neerwaarts, gestart om zo snel mogelijk de mogelijke bron en/of de verspreiding in kaart te brengen. De Gemeente en de GGD worden ingelicht. Als de uitslag van het laboratoriumonderzoek negatief is, worden alle maatregelen opgeheven. Indien de uitslag positief is, worden bestrijdingsmaatregelen genomen zoals het eventueel behandelen van verdachte dieren en ontsmetting op het bedrijf.

In het verleden is bij uitbraken onder rundvee in Nederland gebruik gemaakt van een levend vaccin, gebaseerd op de *B. anthracis*-Sterne stam. Omdat deze stam geen kapsel maakt, is deze niet virulent. Dit vaccin werd door CVI geproduceerd en gaf een goede bescherming, maar de productie is gestopt vanwege de beperkte vraag en de hoge kosten voor registratie. Momenteel is geen (Europees) geregistreerd vaccin beschikbaar.

Discussie

Hoewel al sinds honderden jaren bekend, is de ziekte in vele delen van de wereld nog steeds actueel, een aantal landen in Europa inbegrepen. In West-Europa zijn op veel plaatsen nog steeds *B. anthracis*-sporen aanwezig in de grond, wat wordt bevestigd door de recente vondst van miltvuursporen in Lent. In het algemeen gaat het hierbij om geringe hoeveelheden sporen. CVI beschikt sinds een aantal jaren over een PCR-methode. De inzet van de gevoeligere PCR ten opzichte van de kweek, verhoogt de kans op detectie van eventuele sporen.

Er moet, gezien de lange overlevingstijd van antraxsporen, nog steeds rekening worden gehouden met de mogelijkheid van besmetting. Dit geldt met name voor herkauwers, waar infectieuze doses zijn beschreven van minder dan tien sporen (2). Recente uitbraken in Duitsland en Zweden bevestigen dit.

Hoewel miltvuur ook slachtoffers kan maken onder mensen, wordt de mens als relatief ongevoelig beschouwd. De infectiedosis is niet precies bekend, maar wordt voor gezonde personen



Figuur 2. Foto van een McFaydan (kapsel)-kleuring van een microscopisch preparaat van een bloedmonster. (Foto: CDC/ Courtesy of Larry Stauffer, Oregon State Public Health Laboratory)

die geen wondjes hebben waardoor de kiem het lichaam kan binnendringen, geschat op zeker duizenden tot tienduizenden sporen. De kans op besmetting door contact met witte kuilen kan dus als zeer klein worden beschouwd. Echter: in geval van een uitbraak bij runderen of andere herkauwers, kunnen de hoeveelheden kiemen in kadavers enorm zijn. Belangrijk is dat bij verdenkingen passende voorzorgsmaatregelen worden genomen, zoals het uitsluiten van miltvuur bij plotseling dood gevonden dieren, voordat het kadaver wordt geopend voor bijvoorbeeld pathologisch onderzoek.

Bovenstaande geeft aan dat bij acute sterfte van (weidende) runderen, zeker indien sprake is van grondwerkzaamheden, ook tegenwoordig nog steeds rekening moet worden gehouden met de 'oude, bekende' *B. anthracis*.

Dankbetuigingen

Wij willen Frans Mikx bedanken voor het verzamelen en delen van historische informatie over miltvuurgevallen in Lent en omgeving.

Onderzoek en diagnostiek voor miltvuur vindt plaats vanuit het project 'aangifteplichtige bacteriële dierziekten en zoönosen', projectnummer WOT-01-002-03.02, gefinancierd door het ministerie van Economische zaken.

Validatie van moleculaire diagnostiek en genotypering van Nederlandse stammen heeft deels plaatsgevonden binnen het EU-project AniBio-Threat (www.anibiothreat.com) ●

Literatuur

Kijk voor de referenties op de TvD-website