

Azaspiracide vergiftiging na de mosselmaaltijd op een liefdadigheidsevenement in een woonzorgcentrum in 2012

Wim Flipse¹, Lina Godderis², Emmanuel Goeteyn³

Samenvatting

Bij een mosselmaaltijd ter gelegenheid van een liefdadigheidsevenement in een woonzorgcentrum werden 90 deelnemers ziek. Allen hadden mosselen gegeten en kregen klachten van shellfish poisoning. De maaltijden vonden op twee opeenvolgende dagen plaats. In de mosselen werd een hoge concentratie azaspiracide toxine en een licht verhoogde concentratie okadaïc zuur gevonden in stalen van beide dagen. Hoewel deelnemers aan de eerste dag meer klachten hadden dan deelnemers aan het mosseldiner op de tweede dag, was er geen verschil in klachtenscore, incubatietijd of ziekteduur aan te tonen. De dosis respons liet geen significant verschil zien in klachten tussen de verschillende categorieën. Een ongunstige keuze van categorieën en een gering aantal gevallen door te weinig deelnemers in de het minst consumerende groep droegen hier aan bij. De oudere residenten boven 70 jaar hadden een lagere attack rate en de minste klachten, maar hiervoor kon geen eenduidige verklaring gevonden worden.

Inleiding

Shellfish poisoning is een bekend risico van het eten van mosselen. Door algenbloei in bepaalde periodes van het jaar kunnen er biotoxines in de mosselen komen. Deze algenbloei kan zeer plaatselijk zijn en hangt onder meer af van de watertemperatuur en de in het zeewater aanwezige nutriënten. Er bestaat een gezegde dat als er een 'r' in de naam van de maand staat, de mosselen veilig zijn en gegeten kunnen worden. Tegenwoordig loopt het mosselseizoen van midden juli tot midden april. De periode waarin deze uitbraak speelde was oktober.

Bij een uitbraak van shellfish poisoning in 2007 in Antwerpen werden 400 personen ziek na het eten van mosselen (1). De verschijnselen van shellfish poisoning zijn diarree, misselijkheid, braken met soms neurogene symptomen zoals paresthesie. Waarschijnlijk is shellfish poisoning niet zeldzaam. De betere procedures van oogsten en de behandeling van de mosselen hebben een impact gehad op de aanwezigheid van biotoxines in mosselen en dus op het voorkomen van shellfish poisoning. Omdat de ziekte door een toxine wordt veroorzaakt is het niet besmettelijk van mens op mens.

Mosselen met friet en bier wordt wel gezien als een nationaal gerecht in België. Mosselen en oesters zijn beroemde producten van Zeeland - de buurprovincie in Nederland. De schelpdierproducten worden wereldwijd geëxporteerd, maar tweederde van de mosselen worden afgezet in België. Het is duidelijk

dat wanneer voedselproducten van een buurland problemen geven, er dan aandacht voor komt in de media.

Precies dat gebeurde dan ook nadat Zeeuwse mosselen waren gegeten tijdens een liefdadigheidsevenement in een woonzorgcentrum in Vlaanderen in 2012. Het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen (FAVV) onderzocht in eerste instantie de uitbraak van diarree en braken en haalde alle door het bedrijf geïmporteerde mosselen van de markt. De Nederlandse Voedsel en Warenautoriteit (VWA) op haar beurt wilde weten waar de mosselen vandaan kwamen en waar ze verpakt werden. Het bedrijf trachtte haar prestige te beschermen en het economisch verlies te minimaliseren en weigerde de herkomst te openbaren. Nadat de VWA een dwangsom had opgelegd, overhandigde het bedrijf de gevraagde informatie. De batch kwam uit Ierland en was gespoeld in Zeeland, zodat deze mosselen verkocht werden als Zeeuwse mosselen. Deze azaspiracide toxines werden al geïdentificeerd in diverse West-Europese, Noordwest-Afrikaanse en Oost-Canadese kustregio's, waaronder de Zuidwestkust van Ierland die in het verleden al meermaals werd getroffen door verhoogde gehalten aan azaspiraciden (AZA) in weekdieren (2,3).

Het betrokken lot mosselen werd door deze problematiek via een Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF)-bericht van de Europese markt gehaald.

1. Infectieziektebestrijding Gent, e-mail: wim.flipse@zorg-en-gezondheid.be.
2. Infectieziekebestrijding, Gent.
3. Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen, Gent.

Wat gebeurde er precies in het woonzorgcentrum?

In het woonzorgcentrum in Vlaanderen organiseerde men een liefdadigheidsevenement voor toeleveranciers, familieleden en andere regelmatige bezoekers op een vrijdag en zaterdag in oktober 2012. Bewoners woonden dit liefdadigheidsevenement ook bij. Het belangrijkste bestanddeel van de maaltijden bestond uit mosselen die op de twee dagen in twee shifts werden gegeten. Ongeveer 350 personen in totaal woonden de liefdadigheidsactie bij. De mosselen werden lokaal bereid en opgediend met groenten, brood en met voorverpakte éénpersoonsbakjes met saus. Een alternatief gerecht werd aangeboden in de vorm van een koude vis-of vleeschotel. De zaterdagmorgen werd duidelijk dat velen ziek waren geworden. Ze hadden allemaal mosselen gegeten. Vrijdagavond hadden de eersten al klachten en bij het wakker worden zaterdagmorgen volgden er meer. Enkel bezochten een arts. Er werd een nieuw lot mosselen geleverd voor de volgende dag. Maar ook op zondagmorgen meldden enkele bezoekers dat zij klachten hadden gekregen na het eten van mosselen. Naderhand bleek dat beide loten dezelfde oorsprong hadden.

Het FAVV bezocht het woonzorgcentrum op maandag, maar kon geen onregelmatigheden vaststellen bij de manier van bereiden. Resten van de maaltijd werden verzameld voor onderzoek. Van de beide partijen verse mosselen konden nog monsters genomen worden. In dezelfde periode kwamen nog enkele andere gelijkaardige klachten binnen. Deze konden echter niet bewezen worden. Er werden geen ernstige ziektegevallen geregistreerd. Toezicht Volksgezondheid werd geïnformeerd. Wij interviewden enkele bezoekers en concludeerden ook dat mosselen de meest waarschijnlijke bron van de klachten waren. Alle zieken hadden mosselen gegeten en degenen die geen mosselen hadden gegeten waren niet ziek. Enkele dagen later kreeg de dienst de resultaten van de etensresten. Er was een biotoxine gevonden. Onderzoek op de ontlasting van zieke personen wees geen pathogeen aan en werd helaas niet bewaard. In de voedselreststalen kon okadaic zuur

en azaspiracide toxine worden aangetoond. We besloten de intoxicatie verder te onderzoeken.

Methode

Om de uitbraak van de voedselintoxicatie in kaart te brengen werd een vragenlijst opgesteld met vragen over verschijnselen, de ernst van de klachten en de gegeten maaltijd met supplementen. Drie categorieën mosseleeters werden onderscheiden.

Voor de analyse van de lipofiele algtoxines in mosselen werd gebruik gemaakt van vloeistofchromatografie in combinatie met massaspectrometrie (UPLC-MS/MS). De analyses werden uitgevoerd door het Wetenschappelijk Instituut Volksgezondheid.

Om een dosis-responsanalyse te kunnen verrichten werden de categorieën met gegevens over de ernst van verschijnselen omgezet in een orthogonale score variabele om de totale ernst in maten te kunnen uitdrukken. De resultaten werden geanalyseerd met Epi Info versie 3.4.3 middels odds-ratio's en 95% betrouwbaarheidsintervallen en een F-test op variantie.

Resultaten

Zieken

Van de 340 verzonden vragenlijsten werden er 176 (51,7%) terugbezorgd. In totaal werden 90 (51,1%) personen ziek. Negenenveertig personen die de vragenlijst geretourneerd hadden, waren niet ziek, hoewel zij wel mosselen gegeten hadden. Slechts 37 personen (21%) aten helemaal geen mosselen en waren ook niet ziek. De attack rate onder de mosseleeters was 64,7%. Na de maaltijd op vrijdag werden 75 personen ziek (N=113) en na de maaltijd van zaterdag 15 (N=63), in percentages respectievelijk 75/94 (80,6%) en 15/45 (32,6%). Op vrijdag waren er twee maaltijden op verschillende tijden met een licht verschil in percentage zieken. Van alle personen die de vragenlijst terugstuurden, gingen 8 personen naar de huisarts.

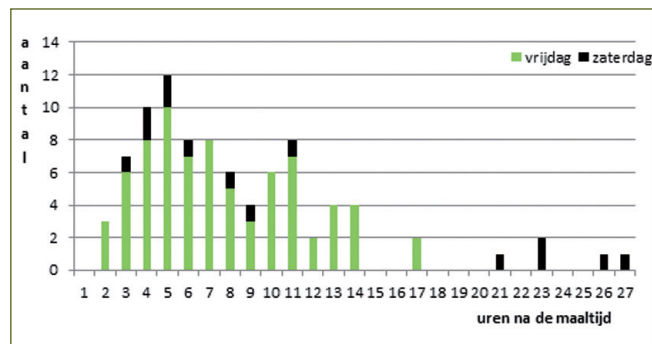
Tabel 1 Zieken en attack rate onder mosseleeters naar leeftijdsgroep

Leeftijdsgroep	0-29 jaar		30-49 jaar		50-59 jaar		60-69 jaar		70+ jaar		Totaal
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N
ziek	12	60	21	61,8	14	50	26	53,1	16	36,4	89
niet ziek	8	40	13	38,2	14	50	23	46,9	28	63,6	86
totaal	20	100	34	100	28	100	49	100	44	100	175
attack rate mosseleeters		85,7		80,8		60,9		63,4		47,1	139

Incubatietijd

Achttien procent van de zieken antwoordde dat zij dezelfde dag ziek werden. De incubatietijd werd berekend vanaf de gerapporteerde tijd dat de maaltijd werd genuttigd tot het begin van de klachten (figuur 1). De gemiddelde incubatietijd was 8,3 uur. De gemiddelde incubatietijd voor de vrijdag betrof 7,5 uur en voor de zaterdag 12,9 uur. De laatste waarde werd sterk beïnvloed door een outlier die het gemiddelde van 11,2 over de andere waarnemingen optrok naar 12,9. Het verschil in incubatietijd tussen vrijdag en zaterdag werd getest met de non-parametrische Wilcoxon Two Sample Test en gaf geen significant verschil.

Figuur 1 Incubatietijd naar dag van mosselen eten in uren



Tabel 2 Klachten naar schaal ernst klachten en gemiddelde score (N=90)

symptomen	ernstig		matig		licht		niet		gemiddelde score *	totaal zieken
	N	%	N	%	N	%	N	%		
braken	30	33	17	19	3	3	40	44	1,41	90
buikkrampen	33	37	19	21	13	14	25	28	1,61	90
diarree	41	46	11	12	11	12	27	30	1,73	90
hoofdpijn	9	10	11	12	7	8	63	70	0,62	90
koorts	1	1	0	0	5	6	84	93	0,15	90
maagkrampen	25	28	23	26	9	10	33	37	1,44	90
misselijkheid	31	34	25	28	8	9	26	29	1,68	90
spierpijn	6	7	4	4	7	8	73	81	0,37	90

*Score niet=0, licht=1, matig=2, ernstig=3

Tabel 3 De gemiddelde klachtenscores na de maaltijd op vrijdag en zaterdag en bij de gevallen met een incubatietijd langer dan 15 uur

symptomen	vrijdag (N=75)	zaterdag (N=15)	incubatietijd langer dan 15 uur (N=7)
	score*	score	score
braken	1,56	0,67	0,71
buikkrampen	1,69	1,53	1,42
diarree	1,84	1,2	1,57
hoofdpijn	0,71	0,2	0,28
koorts	0,09	0,07	0
maagkrampen	1,39	1,73	1,85
misselijkheid	1,79	1,13	1,57
spierpijn	0,41	0,13	0,14

*Score niet=0, licht=1, matig=2, ernstig=3

Klachten

Eén persoon had spierpijn met pijn in de nek en de arm wat ongeveer twee weken duurde. Zij nam een week ziekteverlof. Tabel 2 toont de klachten naar de ernst van de score. En in tabel 3 staan de gemiddelde klachtenscores na de maaltijd op vrijdag en zaterdag bij de gevallen met een incubatietijd langer dan 15 uur.

Analyse geconsumeerde producten

Geen van de personen die geen mosselen hadden gegeten, werden ziek. In tabel 4 worden de odds-ratios (OR) van de andere aangeboden voedselproducten gepresenteerd. Alle OR's van de voedselproducten waren niet significant.

In het staal van de eerste dag werd een sterk verhoogde azaspiracide concentratie gevonden van 1132,5 µg/kg en een licht verhoogde concentratie van okadaïc zuur van 175,3 µg/kg. In het staal van de tweede dag werden concentraties gevonden van respectievelijk 1284,8 µg/kg en 203,9 µg/kg. De toegestane maxima zijn respectievelijk 160 µg/kg en 160 µg/kg (4).

Dosis-respons

De deelnemers aan het liefdadigheidsevenement werden gevraagd tot welke groep mosseleeters ze behoorden (aantal: 0-20, 20-40 of meer dan 40). Meer

dan de helft van de zieken (57) hadden meer dan 40 mosselen gegeten oftewel bijna de hele pot, 25 aten 20 tot 40 mosselen, 5 aten minder dan 20 mosselen en 3 personen specificeerden het aantal mosselen niet.

Het voorkomen van maagkrampen en buikkrampen werd bevestigd via een vragenlijst maar vertoonde een sterke correlatie ($R = 0,62$). Maagklachten namen toe op zaterdag ten opzichte van de andere klachten die juist afnamen en werden niet meegenomen in de totale klachtenscore. De totale klachtenscore liet een significant verschil zien tussen vrijdag en zaterdag, 8,1 versus 4,9 ($F=6,53$ en $p=0,012$). De klacht braken gaf ook een significant verschil ($p<0,05$) tussen vrijdag en zaterdag (zie tabel 3). In een regressiemodel werd de dosis-response geanalyseerd met de totale klachtenscore als afhankelijke variabele en de categorie mosseleeters als onafhankelijke variabele. De categorieën waren niet significant verschillend. De gemiddelde totale klachtenscore was respectievelijk 3,40; 7,32 en 7,93. De klachten stegen door meer mosselen gegeten te hebben. Achttien procent antwoordde dat ze een halve dag ziek waren, 25% een hele dag, 30% twee dagen en 26% langer dan twee dagen. De ziekteduur toonde geen verschil aan tussen de zieken van vrijdag en zaterdag.

Als de duur naar schaal werd getransformeerd kon er in een regressiemodel geen significant verschil aangetoond worden tussen de categorieën mosseleeters. De gemiddelde ziekteduur in de eerste categorie was 1,4 dagen, in de tweede en derde categorie respectievelijk 2,8 en 2,7 dagen.

Tabel 4 Andere voedselproducten die werden aangeboden met aantal zieken en odds-ratio's

symptomen	ziek	niet-ziek	% ziek	OR	95% betrouwbaarheids interval	N
ijsje	9	16	36	0,49	0,2-1,3	25
koude visschotel	0	25	0	-	-	25
koude vleeschotel	0	12	0	-	-	12
saus	26	26	50	0,94	0,5-1,9	52
consumptie	51	48	51	1,04	0,5-1,9	99

Tabel 5 Ziekteduur naar categorie mosseleeters

aantal gegeten mosselen	halve dag		hele dag		twee dagen		langer dan twee dagen		totaal	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
0-20	3	60	2	40	0	0	0	0	5	100
20-40	5	20	5	20	5	20	10	40	25	100
>40	8	14	15	26,3	21	36,8	13	22,8	57	100
totaal	16	18,4	22	25,3	26	29,9	23	26,4	87	100

Discussie

Alle zieken hadden mosselen gegeten en 64,7% van de mosseleeters werd ziek. Opvallend was dat er vrijdag meer mosseleeters ziek werden in vergelijking met zaterdag. Zaterdag werden nieuwe mosselen aangevoerd van een lot dat een dag later verpakt was dan het lot van vrijdag. Hoewel de indruk bestond dat de eerste shift van de vrijdagavond meer zieken telde, bleek de tweede shift juist een hoger percentage zieken te tellen. De attack rate nam af met de leeftijd en ook na correctie voor de dag van de maaltijd gold dat. De andere voedselproducten speelden geen rol in het ziek worden. De koude vlees- en visschotel werd alleen door personen genuttigd die geen mosselen aten, op één persoon na die niet ziek is geworden. De mosselen van beide dagen waren dus van dezelfde batch, alleen die van zaterdag werden dus langer bewaard. Azaspiracide toxine is vrij stabiel en hoeft niet gelijk geconcentreerd te zijn in de mosselen ook al komen die van dezelfde plaats van cultivatie (2). De waarde van azaspiracide zuur was sterk verhoogd, en die van okadaïc zuur licht verhoogd. De incubatieperiodes verschilden op het vlak van spreiding in de tijd op zaterdag ten opzichte van de vrijdag. Er kon echter geen statistisch verschil in incubatieperiode aangetoond worden tussen de vrijdag en de zaterdag. De observatie dat de ouderen (70+) minder ziek waren, zou op tolerantie kunnen wijzen voor de toxines. Er bestond geen verschil in het aantal mosselen dat door de ouderen werd gegeten ten opzichte van de andere leeftijdsgroepen. Een relatief grote groep ouderen was vertegenwoordigd in deze uitbraak, omdat de bewoners deelnamen aan het buffet.

De belangrijkste symptomen van de intoxicatie waren diarree, misselijkheid, buik- en maagkrampen en braken. Er werd nauwelijks koorts en spierpijn geregistreerd. Hoofdpijn werd weinig gerapporteerd. Bij de zeven zieken met een incubatieperiode langer dan 15 uur waren alle symptoomscores lager behalve de maagkrampenscore. De huisartsen rapporteerden dat er veel diarree werd gezien veroorzaakt door norovirus. De ziektegevallen met een lange incubatietijd zouden dus mogelijk ook op basis van een andere aandoening ziek kunnen zijn geweest. De verschijnselen passen bij de verschijnselen van azaspiracide intoxicatie (3).

Het tweede staal dat genomen werd had een hoger gehalte azaspiracide toxine dan het eerste. De eerste shift had een hogere attack rate dan de tweede. Het verschil is echter klein en er bestaat ook een meetonzekerheid, waardoor niet te veel gewicht gegeven kan worden aan het verschil in concentratie toxine en de klachten.

Er bestond een verschil in klachtenscore tussen de categorieën van het aantal geconsumeerde mosselen, maar deze waren niet significant. De categorieën waren mogelijk niet optimaal gekozen, waardoor de categorie van personen die 20 tot 40 mosselen gegeten hadden, weinig verschilde van de

categorie van personen die meer dan 40 mosselen hadden gegeten. In de categorie van personen die minder dan 20 mosselen hadden gegeten waren er te weinig deelnemers aan de maaltijd zodat een trend in klachten niet te onderzoeken was gezien de geringe power. De data suggereerden dat mosseleeters mosselen graag aten (lusten) of niet, maar dat er geen gelijkmatige spreiding bestond van geen mosselen eten tot een hele pot. Selectie zou kunnen bijdragen aan de observatie dat ouderen minder klachten hadden in vergelijking met de jongere deelnemers. Mindere gevoeligheid voor het toxine bij ouderen leek niet waarschijnlijk en is niet beschreven.

Azaspiracide is een polyether met een complexe ringstructuur, dat verantwoordelijk is voor het AZP-syndroom - de azaspiracide poisoning - dat nauw verwant is met het DSP of het diarrheal shellfish poisoning-syndroom. Tot nu toe zijn er drie giftige en acht minder giftige verbindingen geïdentificeerd AZA1-11 (2). Samen met het paralytic shellfish poisoning-syndroom (PSP), het neurotoxic shellfish poisoning-syndroom (NSP) en het amnesic shellfish poisoning-syndroom (ASP) maakt het DSP-syndroom deel uit van de groep van ziektebeelden die het gevolg zijn van de ingestie van biotoxines die geproduceerd worden door mariene algen (dinoflagellaten) die teruggevonden worden in fytoplankton.

De Voedsel- en Landbouworganisatie van de Verenigde Naties (FAO) heeft een voorlopige acute reference dose voor AZA's op 0,04 µg/kg lichaamsgewicht vastgesteld op basis van een lowest observable adverse effects level (LOAEL) van 23 µg AZA per persoon en een lichaamsgewicht van 60 kg met een veiligheidsmarge van factor tien vanwege het kleine aantal beschikbare data.

Voor een toekomstige herevaluatie heeft de European Commission Working Groep on Toxicology in 2005 een criterium voor schelpdiervlees voorgesteld van 3,2 µg/100 g. Deze norm is gebaseerd op de bestaande laagste LOAEL uit studies, een portie schelpdiervlees van 250 g en een veiligheidsfactor drie.

Als we aannemen dat de mosseleeters gemiddeld 1 kg mosselen "imperial"-mosselen aten komt dit neer op ongeveer 200 à 250 gram mosselvlees. Voor een individu van 60 kg komen de vastgestelde concentraties azaspiracide neer op op een dosis van 3,8 a 5,4 µg/kg lichaamsgewicht. In een studie in Frankrijk heeft men de consumptie van mosselen kwantitatiever proberen te benaderen door het aantal geconsumeerde mosselen te tellen, maar door het geringe aantal geïnterviewde personen was de spreiding groot tussen 150-900 gram (5).

Het AZA is betrekkelijk hittestabiel en vervalt langzaam, zodat het ook in de winter gevonden kan worden. AZA-contaminatie van tweekleppigen boven de limiet van 160 µg/kg werd al vastgesteld van midden zomer tot midden winter in de Europese kustwateren. Hoewel de verantwoordelijke algen

het beste floreren in het zomerse warme water kunnen de toxines nog tot maanden na de initiële blootstelling aan het fytoplankton in de mosselen verhoogd aanwezig zijn.

De studie geeft een redelijk beeld weer wat de gevolgen kunnen zijn van de consumptie van geïntoxiceerde mosselen.

Conclusie

Na het eten van mosselen die gecontamineerd waren met azaspiracide toxine en okadaïc zuur werden

veel deelnemers aan het liefdadigheidsevenement ziek en hadden klachten van diarreë shellfish poisoning. Hoewel de data wel een dosis-responseeffect lieten zien, was wegens de gekozen categorieën en het geringe aantal personen in de categorie tot 20 gegeten mosselen geen significante associatie aan te tonen. Personen ouder dan 70 jaar hadden minder klachten. Mogelijk speelde selectie een rol, maar daar was geen bewijs voor. De azaspiracidewaarden in twee genomen stalen waren sterk verhoogd en die van okadaïc zuur waren licht verhoogd. Mogelijk waren er ook enkele zieken door een besmetting met het norovirus. De studie toont aan dat ingestie van gecontamineerde mosselen kan leiden tot bovenstaand ziektebeeld.

Summary

Azaspiracide poisoning following a charity event in a nursing home

At a charity event in a nursing home, 90 participants fell ill after eating a dish containing mussels. All of them had eaten mussels and developed symptoms of diarrheal shellfish poisoning. The event took place on two consecutive days. High concentration of azaspiracide toxin and slightly elevated levels of okadaic acid were found in the mussel batches of both days. Although participants on the first day complained more than those on the second day, there was no significant difference in complaint score, incubation period and duration of illness. The dose response categories did not show a significant difference in complaint score. An adverse selection of categories was a possible explanation, but also the lack of participants in the low consumption category which caused low power in all analyses. The residents above 70 years of age had a lower attack rate and fewer complaints, but no obvious explanation for this observation was found.

Trefwoorden: voedselintoxicatie, biotoxines

Literatuurreferenties

1. De Schrijver K, Maes I. Een collectieve diarree na het eten van mosselen of een biotoxine-intoxicatie. Vlaams Infectieziektebulletin 41;2002(3):12-13.
2. Azaspiracid Shellfish Poisoning (AZP). www.fao.org/docrep/007/y5486e/y5486e0p.htm#TopOfPage verkregen op 10/02/2014.
3. Twiner J, Rehmann N, Hess P and Doucette GJ. Azaspiracid Shellfish Poisoning: A Review on the Chemistry, Ecology, and Toxicology with an Emphasis on Human Health Impacts. Marine Drugs 2008;6:39-72.
4. Verordening (EG) Nr. 853/2004 van het Europees Parlement en de raad van 29 april 2004 houdende de vaststelling van specifieke hygiënevoorschriften voor levensmiddelen van dierlijke oorsprong; bijlage III, sectie IV, H3.
5. Hossen V, Jourdan-da Silva N, Guillois-Bécel Y, Marchal J, Krys S. Food poisoning outbreaks linked to mussels contaminated with okadaic acid and ester dinophysistoxin-3 in France, June 2009. Euro Surveill 2011;16(46).