

NATIONAAL  
REFERENTIE  
CENTRUM

*LISTERIA*  
*MONOCYTOGENES*

Jaarverslag 2022-23



**Sciensano**  
**Infectieziekten mens - Bacteriële ziekten**  
**NRC *Listeria monocytogenes***

April 2024 • Brussel • België

---

VAN DEN BOSSCHE AN

•

MATTHEUS, WESLEY

•

CEYSSENS, PIETER-JAN

An Van den Bossche, Ph.D. • T+32 (0)2 373 32 48 • An.vandenBossche@siensano.be

Wesley Mattheus, Ph.D. • T+32 (0)2 373 32 24 • Wesley.Mattheus@siensano.be

Met de financiële steun van



Flanders  
State of the art



Gelieve te citeren als: Nationaal Referentie Centrum voor *Listeria monocytogenes*, Jaarverslag 2017. Brussel, België.

#### Dankbetuigingen

We betuigen onze dank aan de gezondheidsinspecteurs die de enquêtes bij de patiënten uitvoeren, alsook aan de klinische laboratoria, die door het sturen van hun stammen, meewerken aan het toezicht op deze pathogenen. We bedanken eveneens het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen (FAVV).

# HOOFDPUNTEN HUMANE LISTERIA

- In 2022 en 2023 ontving het Nationale Referentie Centrum respectievelijk 87 en 84 *Listeria monocytogenes* isolaten afkomstig van unieke patiënten. Dit komt overeen met een incidentie van 0.75 en 0.72 per 100 000 inwoners, wat relatief hoog is in vergelijking met het Europese gemiddelde van 0.62/100 000 inwoners. Deze aantal zijn een toename in vergelijking met de laatste 5 jaar.
- In 2022 werden 16 perinatale listeriosen vastgesteld, wat het hoogste aantal perinatale gevallen in 25 jaar is. In 2023 ging het om 10 gevallen. Respectievelijk 6 en 5 van deze gevallen hadden een fatale afloop voor foetus/pasgeborene. Nog eens 4 en 3 gevallen leidden tot een vroeggeboorte.
- In 2022-2023 werden resp. 71 en 74 niet-perinatale listeriosen gedetecteerd, wat leidde tot 10 en 6 gemelde overlijdens. De meest voorkomende symptomen waren sepsis (54.9% en 63.5% in resp. 2022 en 2023), meningitis (14.4%/10.8%) of een combinatie van beiden (18.3%/9.5%).
- Bij de niet-perinatale listeriose gevallen, werden een opvallende meerderheid aan mannelijke gevallen waargenomen met een man/vrouw ratio van 2.55 en 2.08 in respectievelijk 2022 en 2023. 80% en 83.8% van de gevallen waren ouder dan 60 jaar en in 51.4% en 50% van de gevallen werd er een onderliggende aandoening gerapporteerd. Kanker (25.4%/23.0%), (al dan niet iatrogene) immunosuppressie (7.0%/4.1%) en (alcoholische) cirrose (2.8%/6.8%) werden het vaakst gerapporteerd.
- De serotypes 1/2a en 4b zijn de meest voorkomende serotypes in België, met respectievelijk 23.0% en 58.6% van de gevallen in 2022 en 27.4% en 58.3% in 2023. Het aantal 1/2a geassocieerde infecties is de laatste jaren gedaald, terwijl er een sterke toename was van serotype 4b. Dit is grotendeels te wijten aan twee grote niet-gerelateerde uitbraken.
- Alle *Listeria* stammen waren gevoelig voor de 10 geteste antibiotica op één uitzondering na. Deze stam was resistent voor cotrimoxazole.
- In 2022 werden er op basis van cgMLST 6 clusters gedetecteerd. Het ging om 4 kleinere clusters van 2-3 gevallen en één grote cluster van het clonaal complex CC4 met 29 (hoofdzakelijk Vlaamse) gevallen tussen november 2021 en augustus 2022, gerelateerd aan 6 historische gevallen uit 2020. Hoewel er geen exacte bron geïdentificeerd werd, was er een vermoeden richting de consumptie van varkensgerelateerde producten.
- In 2023 werden 4 clusters geïdentificeerd, waarvan 3 kleinere en 1 grote. Deze uitbraak veroorzaakte een listeriose bij 20 personen tussen maart 2023 en maart 2024 en is gelinkt aan twee historische gevallen uit 2019 en 2020. Er werd ook melding gemaakt van 6 Europese (NL en DE) gelinkte gevallen. De oorzaak van deze uitbraak werd gevonden bij besmet varkensvlees.
- In 2022 en 2023 waren er in totaal 5 Europese gemelde uitbraken waarbij er minstens 1 Belgisch geval uit 2022 of 2023 gelinkt kon worden.

# INHOUDSTAFEL

## CONTENTS

●	<b>HOOFDPUNTEN HUMANE LISTERIA</b>	<b>4</b>
●	<b>1. INLEIDING</b>	<b>6</b>
	1.1. <i>Listeria monocytogenes</i>	6
	1.2. Doelstelling	6
	1.3. Kwaliteit	6
●	<b>2. METHODOLOGIE</b>	<b>8</b>
	2.1 Defentities	8
	2.2 Verzamelen van stammen en metadata	8
	2.3 Identificatie	8
	2.4 Serotypering	8
	2.5 Antibioticumresistentie	9
	2.6 Moleculaire typering	9
●	<b>3. RESULTATEN ROUTINEANALYSEN</b>	<b>10</b>
	3.1 Staalcollectie & epidemiologie	10
	3.2. Serotype distributie	13
	3.3. Antibioticumresistentie	14
	3.4. Moleculaire typering & Uitbraken	14
●	<b>4. ONDERZOEK EN ONTWIKKELING</b>	<b>19</b>
	4.1 Uitbraken en studies	19
	4.2 Lopende projecten	19
	4.3 Nieuwe Belac-geaccrediteerde procedures	19
	4.4 Peer-reviewed publicaties	19
	4.5 Uitbraakonderzoek in samenwerking met ECDC	19
●	<b>5. REFERENTIES</b>	<b>20</b>

# 1. INLEIDING

## 1.1. LISTERIA MONOCYTOGENES

Listeriose is een infectie veroorzaakt door de bacterie *Listeria monocytogenes*. Deze bacteriële aandoening komt voornamelijk voor bij personen met een verzwakt immuunsysteem (ouderen, immuungedeprimeerde personen, zwangere vrouwen en neonati). Het algemeen klinische beeld van een listeriose is een infectie van het centrale zenuwstelsel en/of sepsis/bacteriëmie. In het geval van een zwangerschap kan een spontane abortus of een vroeggeboorte optreden.

In het merendeel van de gevallen gebeurt de overdracht van *L. monocytogenes* via de voeding. De gevallen komen meestal geïsoleerd voor maar kunnen ook een epidemisch karakter hebben. De ziekte heeft een lage incidentie, maar gezien de ernst van de aandoening (mortaliteit in 20 tot 30% van de gevallen) moet het toch van nabij opgevolgd worden als een belangrijk probleem voor de volksgezondheid.

De bacteriën van het genus *Listeria* zijn grampositief en mobiel. Het zijn geen sporenvormers en ze zijn niet zuurvast. De primaire habitat is de leefomgeving, waarbij de kiem zeer resistent is tegen extreme leefcondities zoals bijvoorbeeld een lage temperatuur en lage/hoge pH.

Er zijn 28 species van *Listeria* beschreven, verdeeld in twee groepen: *Listeria sensu stricto* en *Listeria sensu lato*. Enkel *Listeria monocytogenes*, dat deel uit maakt van de eerste groep, wordt als pathogeen voor de mens beschouwd. Toch werden er ook al enkele zeldzame gevallen gerapporteerd van humane infecties veroorzaakt door *Listeria ivanovii*, terwijl dit species normaal gelinkt wordt aan dierlijke listeriosis [1,2].

Het species *L. monocytogenes* wordt onderverdeeld in 13 erkende en internationaal gebruikte serotypes, nl. 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e en 7. Het merendeel van de stammen die in België worden geïsoleerd behoren tot de serotypes 1/2a en 4b. Een overzicht van de diversiteit van *L. monocytogenes* stammen van humane voedingsoorsprong in België van 1985 tot 2014 wordt beschreven in de publicatie Bertrand et al. 2016 [3].

## 1.2. DOELSTELLING

De belangrijkste opdracht van het Nationaal Referentie Centrum voor *Listeria* is het verzekeren van een epidemiologisch toezicht op humane *Listeria monocytogenes* infecties. Dit toezicht heeft als doel zo snel mogelijk epidemieën te detecteren, alsook hun oorsprong en op lange termijn de ruimtelijke en tijdelijke tendensen in de evolutie van deze kiem te evalueren.

Daarnaast worden er ook *Listeria* stammen, geïsoleerd uit levensmiddelen, geserotypeerd. Hierdoor kan een eventueel verband tussen de contaminatiebron en de humane uitbraak vastgesteld worden. De moleculaire surveillance van *Listeria monocytogenes* wordt bekomen

door het uitvoeren van Whole Genome Sequencing (WGS) voor elke humane stam. Aan de hand van deze analyse wordt elke stam gesubtypeerd, nl. door het bepalen van het core genome MultiLocus Sequence Type (cgMLST). Het NRC houdt eveneens toezicht op de antibioticagevoeligheid van de geïsoleerde kiemen.

Het NRC werkt nauw samen met de dienst "Epidemiologie van infectieziekten" van Sciensano, dat jaarlijks een lijst van het NRC ontvangt met de bevestigde humane infecties met *Listeria*. Deze gegevens worden vervolgens doorgegeven aan het netwerk Food and Waterborne Diseases and Zoonoses (Europese organisatie voor enterische infecties van het ECDC). De epidemiologische gegevens zijn, met beperkte toegang, op de databank van Sciensano te raadplegen door de gezondheidsinspecteurs van de Gemeenschappen via <https://epistat.sciensano.be/pro/analytcs.aspx>. De algemene tendensen zijn publiek beschikbaar via <https://epistat.sciensano.be/dashboard/>.

Wanneer er een uitbraak vermoed wordt, waarschuwt het NRC de dienst "Epidemiologie van infectieziekten" en de gezondheidsinspecteurs van de betrokken gemeenschappen, zodat een onderzoek bij de patiënten kan opgestart worden. Bovendien wordt het FAVV (Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen) ingelicht voor een onderzoek van de mogelijk besmette eetwaren. Uitbraken worden eveneens Europees gemeld aan ECDC via het platform "EPIS FWD" (Epidemic Intelligence Information System – Food and Waterborne Diseases and Zoonoses).

Dit toezicht laat toe uitbraken te controleren, preventiemaatregelen uit te stippelen en de genomen maatregelen ten gunste van de volksgezondheid en voor de bescherming van de consument te evalueren.

## 1.3. KWALITEIT

De eenheid Gastro-intestinale ziekten en Bacteriële meningitis heeft meer dan 50 jaar ervaring met de identificatie en serotypering van *L. monocytogenes*. Het NRC streeft hierbij naar een hoge kwaliteitsstandaard, zowel op het vlak van de analyses en de epidemiologische studies als op het vlak van communicatie met de correspondenten en opdrachtgevers.

In 2003 heeft het Centrum een officieel kwaliteitssysteem, NBN en ISO/IEC 17025, geïntroduceerd om de kwaliteitsstandaard te officialiseren en sinds 22 juni 2004 is het centrum geaccrediteerd. De moleculaire typerings- en sub-typeringstechnieken zijn sinds juni 2012 geaccrediteerd volgens de ISO15189 norm.

Dit systeem garandeert de nauwkeurigheid en geldigheid van de toegepaste protocollen, de traceerbaarheid van de onderzoeksresultaten, de juistheid van de uitslagen en de technische onafhankelijkheid van het laboratorium. Dit

## INLEIDING

kwiteitssysteem scheidt eveneens een band van vertrouwen tussen het Centrum en zijn correspondenten en klanten dankzij de kwaliteit van de uitgevoerde analyses.

Behalve de invoering van dit officiële kwaliteitssysteem zet het NRC ook actief in op het introduceren van moleculair biologische technieken zoals Next-Generation Sequencing. Deze laten het Centrum toe zijn deskundigheid in nationale en internationale opdrachten in het kader van de volksgezondheid en de bescherming van de consument te verzekeren en uit te voeren.

## 2. METHODOLOGIE

### 2.1 DEFENTITIES

Een listeriose wordt klinisch gedefinieerd als de aanwezigheid van minstens één van volgende vijf symptomen: koorts, meningitis/encefalitis, griepachtige symptomen, sepsis en/of lokale infecties zoals artritis, endocarditis en abces. In het geval van een zwangerschap wordt een listeriose geassocieerd met een miskraam, doodgeboorte (na 20 weken), of premature geboorte (vroeger dan 37 weken).

De lab-definitie van een listeriose omvat een humane infectie waarbij de bacterie *Listeria monocytogenes* wordt geïsoleerd uit een kweek of het DNA wordt gedetecteerd uit een specimen van een in regel steriele site. Op basis van onderstaande definities worden listeriosen in twee types geclassificeerd.

- **Perinatale listeriose (PNL)** is een geval waarbij *L. monocytogenes* wordt geïsoleerd uit een kweek bij een zwangere vrouw, uit een perinataal staal afgenomen bij de geboorte of uit een staal van een neonatus ( $\leq 28$  dagen). In dit geval kan de site ook van niet-steriele origine zijn zoals placenta weefsel, amnionvocht, een vaginale swab of meconium. De moeder en het kind worden als een enkele casus beschouwd.
- **Niet-Perinatale listeriose (n-PNL)** is een geval waarbij *L. monocytogenes* wordt geïsoleerd uit een kweek van een in regel steriele site bij een volwassene (met uitzondering van de zwangere vrouw) of in zeldzame gevallen uit een staal van een kind ouder dan 28 dagen.

### 2.2 VERZAMELEN VAN STAMMEN EN METADATA

Elke isolatie van een humane *L. monocytogenes* stam door klinische laboratoria wordt op vrijwillige basis opgestuurd naar het NRC, samen met het formulier met inlichtingen over de stam en de epidemiologie.

De gevraagde metadata bevatten de leeftijd, geslacht en postcode van de patiënt, samen met het geassocieerd ziektebeeld en informatie i.v.m. recente reizen, onderliggende ziekten en de evolutie van de patiënt of zwangerschap in het geval van perinatale gevallen.

Na ontvangst krijgt elk staal een uniek nummer in de vorm S23BD0xxxx, en wordt de opgenomen metadata digitaal ingebracht in het STARLIMS-systeem. Het analyseverslag met bacteriële identificatie, serotypering en antibioticumresistentieprofiel worden aan het klinische laboratorium gerapporteerd. Het staal wordt na analyse bewaard in een collectie in 20% glycerol op  $-80^{\circ}\text{C}$ .

In Brussel en Wallonië is listeriose een meldingsplichtige ziekte. Elk geconfirmeerd geval van *L. monocytogenes* wordt daarom door het NRC aan de bevoegde gezondheidsinspecteurs gerapporteerd. In geval van een cluster wordt er eveneens melding gemaakt aan de bevoegde gezondheidsinspecteurs van het Department Zorg in Vlaanderen.

### 2.3 IDENTIFICATIE

De genus *Listeria* bestaat uit 28 species waarvan er 10 behoren tot de *Listeria sensu strictu*: *L. monocytogenes*, *L. marthii*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. farberii*, *L. immobilis*, *L. cossartiae*, and *L. swaminathanii*. Met uitzonderlijk van *L. Immobilis* worden deze species gekenmerkt door een positieve mobiliteitstest. De zes meest voorkomende species zijn *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. grayi* en worden traditioneel van elkaar onderscheiden aan de hand van vijf biochemische tests: hemolytische activiteitstest, fosfatidylinositol-specifieke phospholipase C (PI-PLC) activiteitstest en fermentatie van mannitol, xylose en rhamnose [1,4].

In het geval van twijfel, kan *L. monocytogenes* geïdentificeerd worden via MALDI-TOF (Biotyper, Brüker) of een in-house ontwikkelde PCR (zie 2.4).

Voor de detectie van niet-cultiveerbare stammen vanuit steriele omgeving (bloed, lumbaal vocht) wordt gebruik gemaakt van Real Time-PCR (RT-PCR) (Taqman qPCR Master mix, ThermoFisher), vanaf een DNA-extract van het staal. Hierbij wordt de detectie van 2 genen gecontroleerd, *hly* en *lip* zoals beschreven in de publicaties van Garrison (2013) en Le Monnier (2011) [5,6].

### 2.4 SEROTYPERING

Het serotype van een *L. monocytogenes* wordt bepaald door een combinatie van somatische O-antigenen en flagellaire H-antigenen. Momenteel zijn er 13 erkende serotypes: 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e en 7. Serotypering gebeurt aan de hand van klassieke agglutinatie testen [7], gebruikmakende van antisera gemaakt door Denka Seiken en verdeeld via Forlab.

**Tabel 1. Serogroepen van *L. monocytogenes*.**

Serogroep	Serotypes
IIa	1/2a, 3a
IIb	1/2b, 3b, 7
IIc	1/2c, 3c
IVa	4a, 4c
IVb	4b, 4d, 4e, 4ab



Wanneer serotypering niet mogelijk is of geen éénduidige resultaat oplevert, wordt een serogroepering uitgevoerd via een in-house PCR. Hierbij wordt de aanwezigheid van 6 genen onderzocht: *prfA*, *prs*, *lmo0737*, *lmo1118*, *ORF2110*, *ORF2819* [8,9]. De beschreven serogroepen omvatten meerdere serotypes en worden weergegeven in Tabel 1.

### 2.5 ANTIBIOTICUMRESISTENTIE

Het NRC test de antibioticumgevoeligheid van humane *L. monocytogenes* stammen voor 10 antibiotica, gebruikmakend van commerciële E-tests (Biomérieux) volgens de aanwijzingen van de producent. De interpretatie gebeurt volgens de aanbeveling van het “European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing” (EUCAST). De testrange en breekpunt-concentraties worden weergegeven in tabel 2.

**Tabel 2. Antibioticumgevoeligheid testing via E-tests: Test range en breekpunten (µg/ml).**

S = gevoelig / R = resistent / ND= niet-gedefinieerd  
\* EUCAST

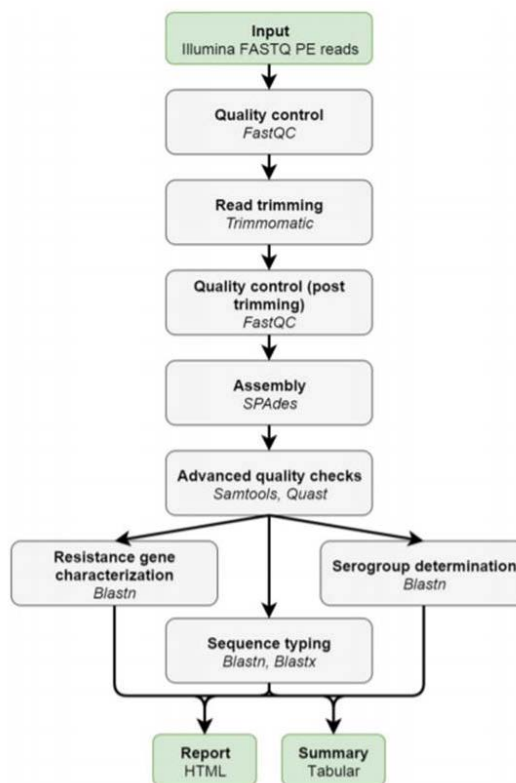
	Range	S	R
Ampicilline*	0.016 – 256	≤ 1	> 1
Gentamicine	0.016 – 256	ND	ND
Amoxicilline	0.016 – 256	ND	ND
Ciprofloxacine	0.002 – 32	ND	ND
Chlooramfenicol	0.016 – 256	ND	ND
Streptomycine	0.064 – 1024	ND	ND
Vancomycine	0.016 – 256	ND	ND
Erythromycine*	0.016 – 256	≤ 1	> 1
Tetracycline	0.016 – 256	ND	ND
Trimethoprim * +sulfamethoxazole	0.002 - 32	≤ 0.06	> 0.06

### 2.6 MOLECULAIRE TYPERING

Sinds 2016 werd er aan het NRC overgeschakeld van MLST (Multilocus Sequence Typing) en PFGE (Pulse Field Gel Electroforese) naar Whole Genome Sequencing (WGS). Het DNA van elke stam wordt geëxtraheerd. WGS wordt uitgevoerd met MiSeq (Illumina) op basis van een Nextera library prep. Voor de *in silico* analyse van de data werd een op maat gemaakte pipeline ontwikkeld (Galaxy), weergegeven in figuur 1. Het eerste deel van de analyse bestaat uit een kwaliteitscontrole, “read trimming” en assemblage van de sequentie. Dit proces werd in 2018 gevalideerd door de succesvolle deelname aan de “Proficiency test for *Listeria monocytogenes* whole genome assembly” georganiseerd door ECDC [10]. Vervolgens kunnen onder andere volgende bio-informatische assays uitgevoerd worden: (1) karakterisatie van de resistentiegenen, (2) typering via klassieke MLST en core genome MLST (cgMLST), en (3) serogroep bepaling.

Bij cgMLST wordt de sequentie van 1748 kerngenen (loci) bepaald [11], waarbij elke unieke sequentie een uniek

allelnummer krijgt toegekend. Aan de hand van het bekomen cgMLST profiel worden clusteranalyses uitgevoerd om het verwantschap tussen stammen na te gaan. Dit verwantschap wordt uitgedrukt in “Allelic Difference” (AD), zijnde het aantal loci met een verschillend allelnummer.



**Figuur 1. Overzicht van de Bio-informatische workflow voor Whole Genome sequencing.**

## 3. RESULTATEN ROUTINEANALYSEN

### HUMANE LISTERIA MONOCYTOGENES

#### 3.1 STAALCOLLECTIE & EPIDEMIOLOGIE

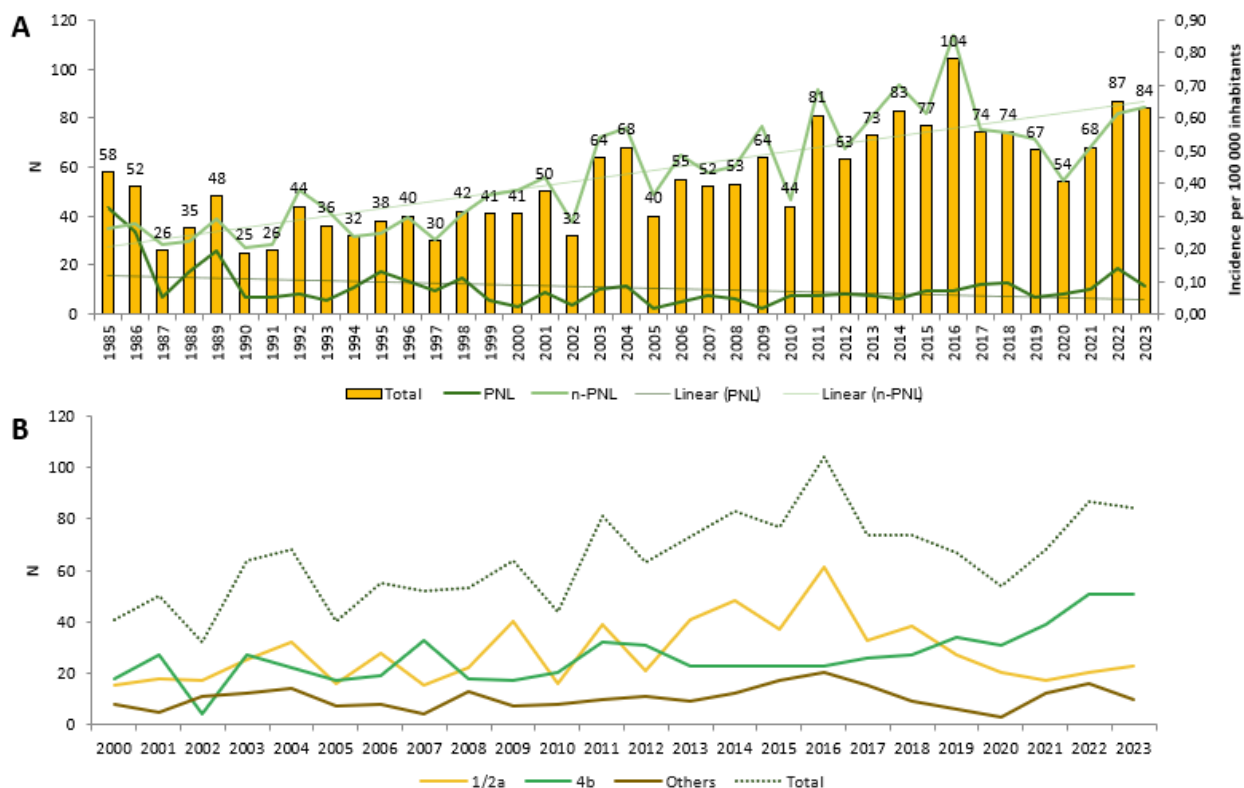
In 2022 en 2023 werden respectievelijk in totaal 180 en 168 humane stalen naar het NRC Listeria gestuurd. In 2022 werden 89 niet-cultiveerbare stalen (Lumbaal vocht, bloed, serum) opgestuurd ter detectie van *L. monocytogenes*, waarvan er 1 positief werd bevonden voor de aanwezigheid van *L. monocytogenes*. In 2023 werden er 3 positieve stalen gedetecteerd uit 72 niet-cultiveerbare stalen.

De stammen van 86 en 81 unieke gevallen van listeriose werden naar het NRC opgestuurd in resp. 2022 en 2023, waarvoor de identificatie van *L. monocytogenes* werd bevestigd. Samen met de niet-cultiveerbare stammen, brengt dit het totaal aantal listeriose gevallen op respectievelijk 87 en 84. Dit komt overeen met een incidentie van 0.75 en 0.72 gevallen/ 100 000 inwoners. Deze incidenties zijn relatief hoog in vergelijking met andere EU-landen (gemiddeld 0.62 gevallen/ 100 000 inwoners). Wel is er een vergelijkbare trend waarbij de cijfers na een daling in 2018-2020, de voorbije 2 jaar terug gestegen zijn. Vooral in 2022 is er toename waarneembaar in België, maar ook in andere landen van de EU (Figuur 2a) [12].

In België zijn deze verhoogde aantallen deels te wijten aan twee niet-gerelateerde grote uitbraken in de winter van 2021-2022 en de winter van 2023-2024 (zie 3.4). In 2022 werd bovendien een opvallend hoog aantal perinatale listeriose gevallen geïdentificeerd, waarbij 16 gevallen het hoogste aantal is van de voorbije 25 jaar aan surveillance.

#### 3.1.1 SPECIMEN

De grootste fractie van *Listeria* stammen werd geïsoleerd uit bloed (72.4% en 75.0% in resp. 2022 en 2023) en lumbaal vocht (17.2%/11.9%). In 2022, was 1 niet-perinatale staal afkomstig uit feces en 1 uit galvocht. In 2023, werd er 1 staal geïsoleerd uit urine, 1 uit etter, 1 uit een vals femoraal aneurysma, 1 uit een fistel en 1 uit ascitesvocht. Voor de perinatale gevallen werden er in 2022 7 stammen opgezuiverd uit de placenta. In 2023, waren 2 stammen afkomstig uit de placenta, 2 uit een urethraal/vaginaal secreet, 1 uit amnionvocht en 1 uit een surveillance monster (Tabel 3).



**Figuur 2.** Overzicht van het aantal Listeriose gevallen bevestigd aan het NRC Listeria.

**A.** Absolute aantallen en incidentie van *L. monocytogenes* geconfirmeerd van 1985 tot 2023. **B.** Absolute aantallen listeriosen per serotype, van 1985 tot 2023.

**Tabel 3. Oorsprong van de isolaten.**

**a. 2022**

SPECIMEN	N (PNL)	N (n-PNL)	N (Totaal)	%
Bloed	8	55	63	72.4%
Lumbaalvocht	1	14	15	17.2%
Feces	0	1	1	1.1%
Urine	0	0	0	0.0%
Etter	0	0	0	0.0%
Urethraal/vaginaal secreet	0	0	0	0.0%
Placenta	7	0	7	8.0%
Andere/onbekend	0	1	1	1.1%
<b>Totaal</b>	<b>16</b>	<b>71</b>	<b>87</b>	<b>100%</b>

**b. 2023**

SPECIMEN	N (PNL)	N (n-PNL)	N (Totaal)	%
Bloed	4	59	63	75.0%
Lumbaalvocht	0	10	10	11.9%
Feces	0	0	0	0.0%
Urine	0	1	1	1.2%
Etter	0	1	1	1.2%
Urethraal/vaginaal secreet	2	0	2	2.4%
Placenta	2	0	2	2.4%
Andere/onbekend	2	3	5	6.0%
<b>Totaal</b>	<b>10</b>	<b>74</b>	<b>84</b>	<b>100%</b>

**3.1.2 KLINISCHE PATHOLOGIE, ONDERLIGGENDE ZIEKTEN EN OVERLIJDENS**

*Perinatale gevallen*

In 2022 en 2023 werden respectievelijk 16 en 10 perinatale listeriose gevallen bevestigd aan het NRC (Tabel 3). In tegenstelling tot de aantallen van 2023, die in lijn liggen met de voorbije jaren, werd in 2022 het hoogste aantal perinatale gevallen in 25 jaar waargenomen (Figuur 2a). Dit wijst erop dat er nog steeds nood is aan het behoud van actieve preventiecampagnes bij zwangere vrouwen.

In 2022 veroorzaakte de listeriose bij 6 moeders sepsis, t.o.v. bij 2 moeders in 2023. In 2023 was er ook één moeder met meningitis. De infectie leidde voornamelijk tot (zeer) ernstige gevolgen voor de foetus/pageborene (Tabel 4). In 2022 en 2023, was de infectie fataal voor respectievelijk 6 en 5 gevallen (37.5% en 50.0%). Dit was het gevolg van een spontane abortus (2/2), een doodgeboorte (3/2) of sterfte van de pasgeborene kort na de geboorte (1/1). Bovendien leidde de infectie in resp. 5 en 4 gevallen tot een premature bevalling (waarvan telkens 1 letaal). In beide jaren werd bij 1 baby sepsis vastgesteld. In 2022, was er eveneens een baby met meningitis.

Hierbij moet steeds rekening gehouden worden met het feit dat niet voor elk gerapporteerd geval alle metadata aan het NRC aangeleverd worden.

**Tabel 4. Gevolgen van perinatale infecties.**

JAAR	Vroeg-geboorte	Overlijden in utero	Overlijden na geboorte	Onbekend	N (PNL)
2014	2	1	0	2	5
2015	7	1	0	0	8
2016	3	2	0	3	8
2017	3	4	0	3	10
2018	3	0	0	8	11
2019	2	2	0	2	6
2020	2	1	0	4	7
2021	3	1	1	4	9
2022	4	5	1	6	16
2023	3	4	1	2	10

*Niet-perinatale gevallen*

Bij de niet-perinatale gevallen zijn sepsis (54.9% en 63.5% in resp. 2022 en 2023), meningitis (14.4%/10.8%) of een combinatie van beiden (18.3%/9.5%) de meest voorkomende aandoeningen (Tabel 5). Andere aandoeningen die gerapporteerd werden omvatten o.a. koorts, griepachtige symptomen, verwardheid, ascite, pneumonie, verlamming en endocarditis.

In 2022 werden 10 overlijdens genoteerd (14.1% van de niet-perinatale gevallen), ten opzicht van 6 overlijdens in 2023 (8.1%). Deze cijfers zijn iets hoger dan voorbijaande jaren, maar leunen waarschijnlijk al iets dichterbij de realiteit omdat er de voorbije jaren een uitgebreidere bevraging was van de patiënten. Europees werd er in 2022 een mortaliteit van 10.1% van de listeriosis gevallen gerapporteerd aan ECDC [12], maar ook dit is een onderschatting van de reële cijfers.

**Tabel 5. Pathologie niet-perinatale gevallen.**

Pathologie	2022		2023	
	N (n-PNL)	% (n-PNL)	N (n-PNL)	% (n-PNL)
Sepsis	39	54.9	47	63.5
Meningitis	10	14.4	8	10.8
Sepsis + Meningitis	13	18.3	7	9.5
Andere	8	10.8	9	8.5
Onbekend	1	1.4	3	4.1
<b>Totaal</b>	<b>71</b>	<b>100</b>	<b>74</b>	<b>100</b>

Voor ongeveer de helft van de niet-perinatale gevallen (51.4%/50.0%), werd een onderliggende aandoening gerapporteerd aan het NRC (Tabel 6). De meest voorkomende aandoeningen zijn kanker (25.4%/23.0%), (al dan niet iatrogene) immunosuppressie (7.0%/4.1%) en (alcoholische) cirrose (2.8%/6.8%). Dit hoge percentage aan onderliggende aandoening demonstreert dat voornamelijk personen met een gecompromitteerd immuunsysteem vatbaar zijn voor een *Listeria* infectie.

**Tabel 6. Onderliggende aandoeningen bij niet-perinatale gevallen.**

Onderliggende aandoening	2022		2023	
	N (n-PNL)	% (n-PNL)	N (n-PNL)	% (n-PNL)
Kanker	18	25.4	17	23.0
Digestieve aandoeningen	1	1.4	1	1.4
Cardiovasculaire aandoeningen	3	4.2	1	1.4
latrogene immunosuppressie	1	1.4	3	4.1
Immunosuppressie	4	5.6	0	0.0
Nieraandoeningen	2	5.7	3	4.1
Respiratoire aandoeningen	0	0.0	2	2.7
Alcoholisme/cirrose	2	5.7	5	6.8
Transplantatie	4	11.4	2	2.7
Onbekend	36	50.7	40	54.1
<b>Totaal</b>	<b>71</b>	<b>100</b>	<b>74</b>	<b>100</b>

### 3.1.3 LEEFTIJD- EN GESLACHTSDISTRIBUTIE

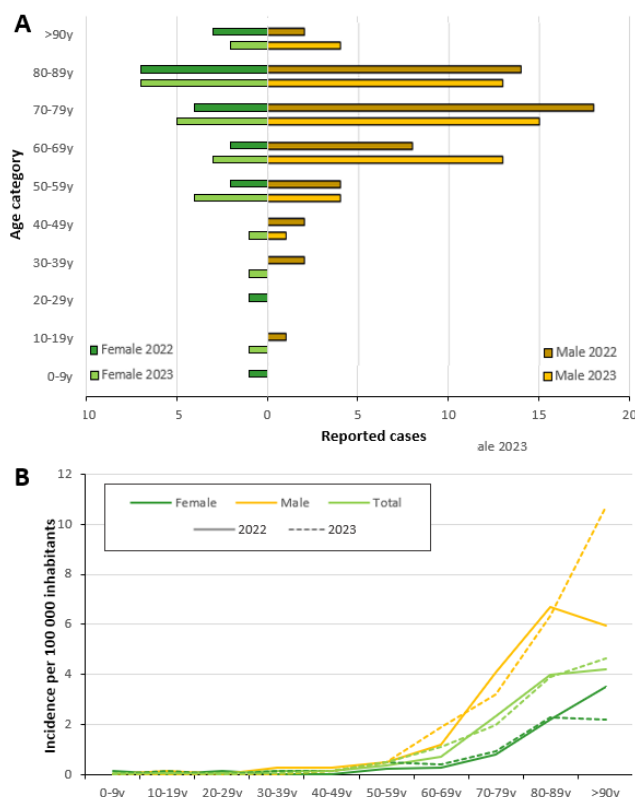
#### Perinatale gevallen

Voor de perinatale gevallen is de gemiddelde leeftijd van de moeder 33.6 jaar in 2022 en 32.7 jaar in 2023.

#### Niet-perinatale gevallen

Niet-perinatale listeriosen komen het vaakst voor in de oudere groepen van de bevolking (Figuur 3). Meer dan 80% van de gevallen zijn ouder dan 60 jaar (81.7% en 83.8% in resp. 2022 en 2023), met een gemiddelde leeftijd van 71.0 en 72.0 jaar. Dit bevestigt dat leeftijd een risicofactor is voor *Listeria* infecties. Een reden hiervoor is dat oudere personen vaker onderliggende aandoeningen hebben (zie 3.1.2).

Opvallend genoeg is het aantal geconfirmeerde niet-perinatale listeriose gevallen geïsoleerd bij mannen hoger dan bij vrouwen. In 2022 en 2023 zelfs dubbel zo hoog, met een man/vrouw ratio van respectievelijk 2.55 en 2.08 in vergelijking met ratio's variërend tussen 1.1 en 1.6 de voorbije 5 jaar. In overeenstemming met deze aantallen is de incidentie bij mannen hoger (0.90/0.87 gevallen per 100 000 inwoners) dan bij vrouwen (0.34/0.40 gevallen per 100 000 inwoners). Vooral bij oudere mannen stellen we hoge incidenties vast met incidentie van 3 tot 11 gevallen per 100 000 inwoners in de leeftijdscategorie 70-79 jaar, 80-89 jaar en ouder dan 90 jaar.



**Figuur 3. Distributie van niet-perinatale listeriose gevallen per geslacht en leeftijdsgroep, in 2022-2023.**

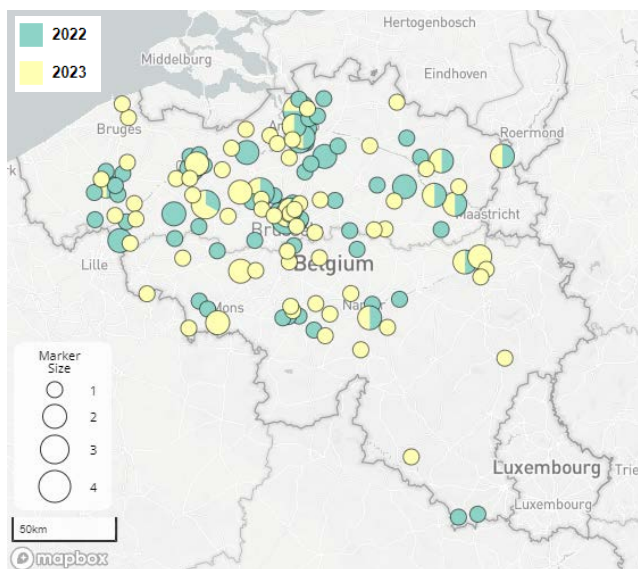
**A.** Leeftijdspiramide van bevestigde niet-perinatale listeriosen. **B.** Incidentie (per 100 000 inwoners) per leeftijdsgroep.

Deze nationale cijfers zijn meer uitgesproken dan de Europese gemiddelden, waarbij 71% van de gevallen ouder is dan 64 jaar en 54.2% van de gevallen bij mannen werden geïdentificeerd t.o.v 45.8% bij vrouwen [12].

### 3.1.4 GEOGRAFISCHE DISTRIBUTIE

Figuur 4 geeft de geografische spreiding van de gerapporteerde listeriose gevallen in België weer. In 2022 werd een hoger voorkomen van listeriose in Vlaanderen en Brussel vastgesteld met een incidentie van 0.87 gevallen/100 000 inwoners en 0.90 gevallen/100 000 inwoners t.o.v. 0.49 gevallen/100 000 inwoners in Wallonië. In 2023 was de spreiding gelijk verdeeld met incidenties van 0.69-0.48-0.79 gevallen per 100 000 inwoners in respectievelijk Vlaanderen, Brussel en Wallonië.

In de winter van 2021-2022 vond een grote uitbraak plaats waarbij 93% van de 29 gevallen afkomstig waren uit 3 provincies (Antwerpen, Oost-Vlaanderen, Vlaams-Brabant). In de winter van 2023-2024 vond een andere grote uitbraak plaats. 85% van 20 gevallen waren gesitueerd in Vlaanderen, maar met een gelijkmatigere verspreiding over de 5 provincies. Deze uitbraken worden in meer detail besproken in 3.4.



**Figuur 4. Spreiding van het aantal listeriose gevallen in 2022 en 2023.** Gevallen worden weergegeven op basis van de postcode van de patiënt.

### 3.2. SEROTYPE DISTRIBUTIE

In tabel 7 wordt een overzicht gegeven van de distributie van de geïdentificeerde *L. monocytogenes* serotypes in 2022 (a) en 2023 (b). Zoals de voorbije jaren, zijn de serotypes 1/2a en 4b de meest voorkomende serotypes in België, met respectievelijk 23.0% en 58.6% van de gevallen in 2022 en 27.4% en 58.3% in 2023. Zoals vermeld in 2.4 wordt voor stammen waarbij klassieke serotyping niet éénduidig is, een moleculaire serogroepering uitgevoerd. Omdat serogroepen meerdere serotypes bevatten (Tabel 1), worden zij in de tabel 7 apart weergegeven. Voor stammen die positief testen via RT-PCR, kan de serogroep niet bepaald worden door een te lage concentratie aan DNA. Zij worden in de tabel weergegeven als 'NA'.

**Tabel 7. Distributie serotypes *L. monocytogenes*.**

a. 2022

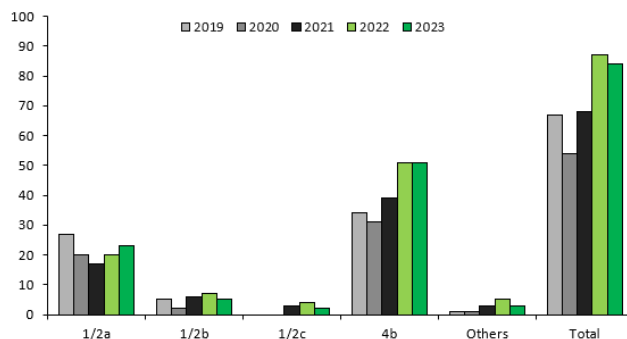
SEROTYPE	PNL	n-PNL	N	%
1/2a	4	16	20	23.0
1/2b	2	5	7	8.0
1/2c		4	4	4.6
3a				
3b		1	1	1.1
4b	9	42	51	58.6
IIa	1		1	1.1
IIb				
IVb				
NA		1	1	1.1
<b>Totaal</b>	<b>16</b>	<b>71</b>	<b>87</b>	<b>100.0</b>

b. 2023

SEROTYPE	PNL	n-PNL	N	%
1/2a	1	22	23	27.4
1/2b	2	3	5	6.0

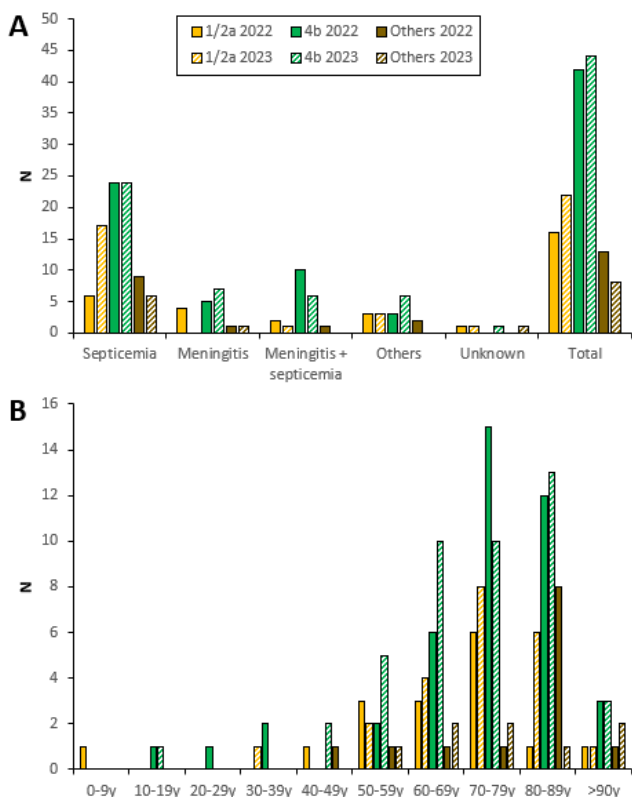
1/2c		2	2	2.4
3a				
3b				
4b	5	44	49	58.3
IIa				
IIb				
IVb		2	2	2.4
NA	2	1	3	3.6
<b>Totaal</b>	<b>10</b>	<b>74</b>	<b>84</b>	<b>100.0</b>

Hoewel de incidentie van het serotype 4b vrij stabiel bleef t.e.m. 2018 en fluctuaties in het aantal listeriose gevallen voornamelijk toe te schrijven waren aan fluctuaties van het serotype 1/2a, is deze trend de laatste 5 jaar omgekeerd (figuur 2b & 5). Het aantal 1/2a geassocieerde infecties is gedaald en er werd een sterke toename van het aantal 4b geassocieerde gevallen genoteerd. De voorbije 2 jaar is een deel van deze toename te wijten aan de twee grote uitbraken in de winter van 2021-2022 en de winter 2023-2024, die beiden veroorzaakt werden door een uitbraakstam met serotype 4b (zie 3.4). Bovendien zien we de laatste jaren een toename van het aantal stammen van het clonaal complex CC388 van het serotype 4b, die voordien weinig voorkomend waren (zie 3.4).



**Figuur 5. Distributie van de serotypes de voorbije 5 jaar.** Absolute aantal van de serotypes 1/2a, 1/2b, 1/2c, 4b en andere.

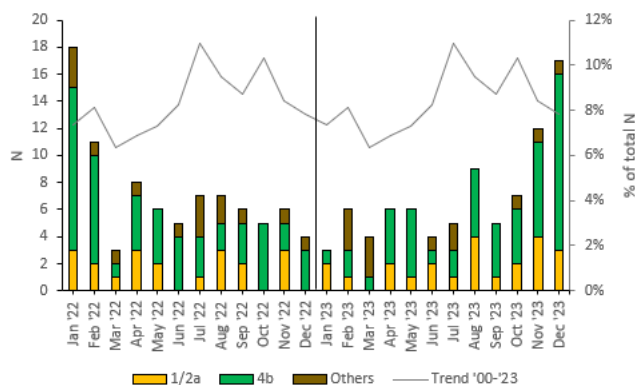
In figuur 6 wordt de distributie van de serotypes van de niet-perinatale gevallen bekeken per pathologie en per leeftijdscategorie. In 2023 werd bij de 1/2a geassocieerde infecties hoofdzakelijk sepsis vastgesteld, in tegenstelling tot in 2022 waarbij de ziektesymptomen meer verdeeld waren. In 2022 werd het grootste aantal infecties dat niet veroorzaakt werd door een stam van serotype 1/2a of 4b geobserveerd in de leeftijdscategorie 80-89 jaar. Deze observaties zijn hoogstwaarschijnlijk gebaseerd op toeval. In het algemeen kan gesteld worden dat de prevalentie per categorie in lijn ligt met de algemene prevalentie van de serotypes.



**Figuur 6. Distributie van de serotypes van de niet-perinatale gevallen in 2022 en 2023.**

**A.** Distributie per pathologie **B.** Distributie per leeftijdscategorie

In figuur 7 wordt de maandelijkse distributie van het aantal *Listeria* infecties weergegeven per serotype. De infecties komen verspreid over het hele jaar voor, met vaak een verhoging in de zomermaanden en het najaar (zie trendlijn 2000-2023). In 2022 en 2023 werd deze trend verbroken door de uitbraken in het begin van 2022 en op het eind van 2023, met duidelijk verhoogde aantallen van het serotype 4b als gevolg in deze perioden (zie 3.4).



**Figuur 7. Distributie van de serotypes per maand in 2022 en 2023.**

### 3.3. ANTIBIOTICUMRESISTENTIE

*L. monocytogenes* vertoont intrinsieke resistentie tegen derde generatie cefalosporines (cefotaxim en ceftriaxone),

monobactams (azetreonam), oxacillineseerste generatie quinolonen (nalidixinezuur), fosfomycine en sulfonamides [13]. Verworven resistenties tegen andere antibiotica blijft voorlopig gelukkig nog steeds laag, maar werden wel al gerapporteerd [14]. Standaard wordt een listeriose behandeld met ampicilline/amoxicilline, en omwille van het synergetisch effect, vaak gecombineerd met een aminoglycoside zoals gentamicine [15,16]. In geval van intolerantie tegenover  $\beta$ -lactams wordt trimethoprim-sulfamethoxazol toegediend [16].

Alle listeria isolaten die naar het NRC worden gestuurd, worden getest op antimicrobiële gevoeligheid t.o.v. 10 antibiotica (zie 2.5). Voor de antibiotica waarvoor klinische breekpunten gedefinieerd zijn (ampicilline, erythromycine en trimethoprim+sulfamethoxazole), werden alle stammen als gevoelig bevonden op één stam na. Deze stam was resistent voor trimethoprim+sulfamethoxazole met een MIC waarde van 0.75  $\mu$ g/ml. Resistentie voor dit antibioticum werd al eens geobserveerd in 2017 en in 2008. Genetische oorzaken van deze resistentie konden niet vastgesteld worden op basis van WGS.

In figuur 8 wordt de MIC<sub>50</sub> en MIC<sub>90</sub> distributie van de 10 geteste antibiotica weergegeven sinds 2000. Voor de meeste antibiotica bleef de trend stabiel over de laatste jaren. De stijgende trend die eerder werd waargenomen voor chloramfenicol, amoxicilline, tetracycline en ciprofloxacine [3], lijkt de laatste jaren terug te dalen voor alle vier de antibiotica.

### 3.4. MOLECULAIRE TYPERING & UITBRAGEN

Sinds 2016 worden alle stammen die naar het NRC opgestuurd worden geanalyseerd via WGS. Op basis van deze WGS-data kunnen verschillende moleculaire analyses en typeringen uitgevoerd worden.

Uit de ruwe WGS-data wordt eerst het klassieke 7-genen MLST-profiel en bijhorend clonaal complex van elk isolaat geëxtraheerd. In Figuur 9 wordt een overzicht gegeven van de abundantie van de clonale complexen over de voorbije 5 jaar.

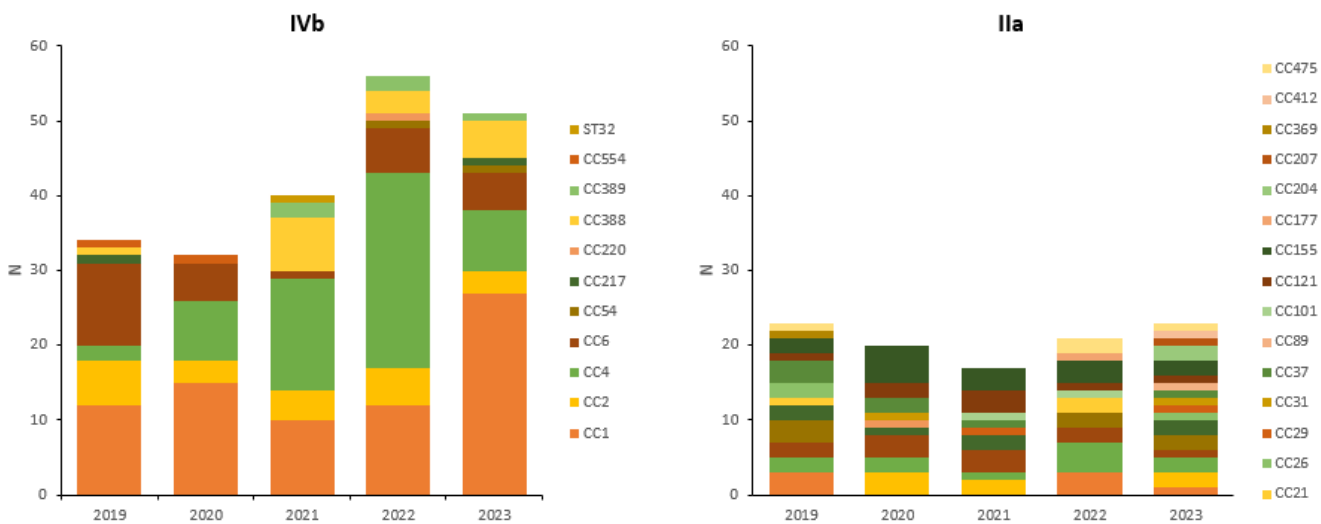
Binnen de serogroep IVb, werd een sterke toename van CC4 waargenomen in 2021-2022 die te wijten is aan de uitbraak die hieronder wordt besproken. In 2023 daalde dit aantal terug, maar bleef het toch op een hoger niveau dan voor 2020, hoewel het om losstaande gevallen ging. In 2023 werd eveneens een piek waargenomen aan CC1 gerelateerde listeriosen. Dit clonaal type, dat algemeen al tot één van de meest voorkomende types behoorde, werd voornamelijk verhoogd in aantal door een grote uitbraak die startte in het najaar van 2023 (zie hieronder). Als laatste, zien we sinds 2021 een verhoogd voorkomen van CC388, dat voordien zelden voorkwam. De gevallen die in 2022 en 2023 werden geïdentificeerd zijn niet gerelateerd aan de uitbraak van 2021.

Binnen de serogroep IIa, zijn de isolaten verspreid over een groter aantal clonale complexen. De laatste jaren vonden geen grote uitbraken plaats binnen deze serogroep in België, waardoor er slechts 1 tot 4 isolaten werden geïdentificeerd per CC.

## LISTERIA SURVEILLANCE



**Figuur 8.** Distributie van de MIC<sub>50</sub> en MIC<sub>90</sub> (µg/ml) van de stammen geïsoleerd tussen 2000 en 2023.



**Figuur 9.** Abundantie van de clonale complexen (CC) binnen de serogroepen IVb en IIa in 2019-2023.

Aan de hand van cgMLST werden de isolaten in meer detail geanalyseerd (1748 genen MLST). In Figuur 10 is een dendrogram weergegeven van de cgMLST profielen van isolaten binnen serogroep IVb. Allelische verschillen groter dan 200, worden niet aangeduid. Voor de andere isolaten wordt de phylogenetische boom niet weergegeven omdat ze hoofdzakelijk bestaan uit een groep van geïsoleerde gevallen. Op de figuur is duidelijk zichtbaar dat zelfs het aantal allelische verschillen (AD) tussen stammen van eenzelfde clonaal complex hoog kan oplopen. Voor CC388 zijn er zelfs isolaten met meer dan 200 AD, waardoor ze in een andere tak binnen het dendrogram vallen.

Twee isolaten worden als een cluster beschouwd wanneer er maximum 7 allelische verschillen (allellic differences, AD) tussen beide cgMLST profielen zijn [17]. De cluster wordt benoemd zodra minimum 2 isolaten geïsoleerd werden binnen een tijdspanne van 12 maanden. Alle (historische en opvolgende) stammen die eveneens clusteren worden meegenomen in verdere analyse. In 2022 waren 6 clusters actief waarvan er 4 nieuw benoemd werden binnen het NRC. In 2023 ging het om 4 actieve clusters, waarvan er 3 nieuw benoemd werden. Een epicurve van alle (historische) betrokken isolaten van deze 10 uitbraken wordt weergegeven in figuur 11.

### 2014\_BETA

Deze cluster omvat in totaal negen gevallen van het serotype 1/2c, clonaal complex CC9, sequence type ST9, cgMLST type CT3919, met een verschil van 0-7 AD (volgens het schema van Moura et al. [11]). De twee recentste stammen werden met een maand verschil geïsoleerd in januari en februari 2022, bij twee oudere mannen uit West-Vlaanderen. De oudere gevallen dateren van 2021 (2), 2017 (1), 2016 (1) en 2014 (3), en waren afkomstig van oudere personen uit Antwerpen, Vlaams-Brabant, Henegouwen en Namen. Beide recente gevallen waren niet bereid om deel te nemen aan een voedingsenquête. Een mogelijke bron blijft voorlopig ongeïdentificeerd.

### 2020\_ALPHA

In het voorjaar van 2023 vormden twee isolaten een cluster met 4 AD genetisch verschil. Deze stammen van serotype 4b, clonaal complex CC1, sequence type ST1 en cgMLST type CT8083, clusteren eveneens met een groep van 4 stammen uit 2020. Het geval van februari 2024 was een perinataal geval uit Vlaanderen met een spontane abortus als gevolg. Alle andere gevallen waren niet-perinataal en afkomstig uit Wallonië, met een leeftijd variërend tussen 64 en 84 jaar. Een vermoedelijke bron werd niet geïdentificeerd.

### 2020\_BETA

Tussen november 2021 en augustus 2022, werden 29 gevallen geïdentificeerd met als genetisch kenmerk serogroep IVb, CC4, sequence type ST4 en cgMLST type CT7830, met een spreiding van 0-6 AD tussen de stammen. Het zwaartepunt van deze uitbraak lag in december-februari. Voorafgaand aan deze uitbraak, werden in 2020 reeds 6 gevallen gedetecteerd die met elkaar en de

recentere gevallen clusterden. Van de in totaal 35 gevallen, waren 33 afkomstig uit de provincies Oost-Vlaanderen, Antwerpen, Vlaams-Brabant en Limburg en slechts 2 uit Wallonie. Vijf gevallen waren perinataal, waarbij 2 leidden tot een spontane abortus of doodgeboorte en 2 tot een premature geboorte. Bij de niet-perinatale gevallen werden 4 overlijdens gemeld. Het aantal infecties was gelijk verdeeld tussen mannen (17) en vrouwen (18), met een gemiddelde leeftijd van 77 jaar voor de niet-perinatale gevallen (range 57-97).

In 2020 werd reeds een Europees alert gelanceerd (2020-FWD-00035) door ons NRC, dat in 2022 geheractiveerd werd. Behalve 1 letaal geval in Italië in 2020 met 7-8 AD van de Belgische uitbraakstammen, werden geen andere internationale gevallen gerapporteerd. Verder onderzoek van stammen uit het officiële monitoringsprogramma van het FAVV leverde een genetische match op met een stam geïsoleerd uit vleessalade. De exacte bron kon echter niet geïdentificeerd worden. Van de 13 patiënten die bevestigd konden worden naar hun voedingsconsumptie, werd bij 12 de consumptie van ham of andere varkensgerelateerde producten bevestigd.

### 2022\_ALPHA

Deze genetische cluster omvat 3 stammen van het serotype 1/2a, clonaal complex CC19, serotype ST399 en cgMLST type CT10961. Twee opeenvolgende gevallen werden geïsoleerd in november 2021 en januari 2022. Een derde geval werd geïdentificeerd eind 2023. Alle isolaten waren afkomstig van oudere personen uit 3 verschillende Vlaamse provincies. Een voedingsenquête kon bij één persoon afgenomen worden maar een mogelijke bron werd niet gevonden.

### 2022\_BETA

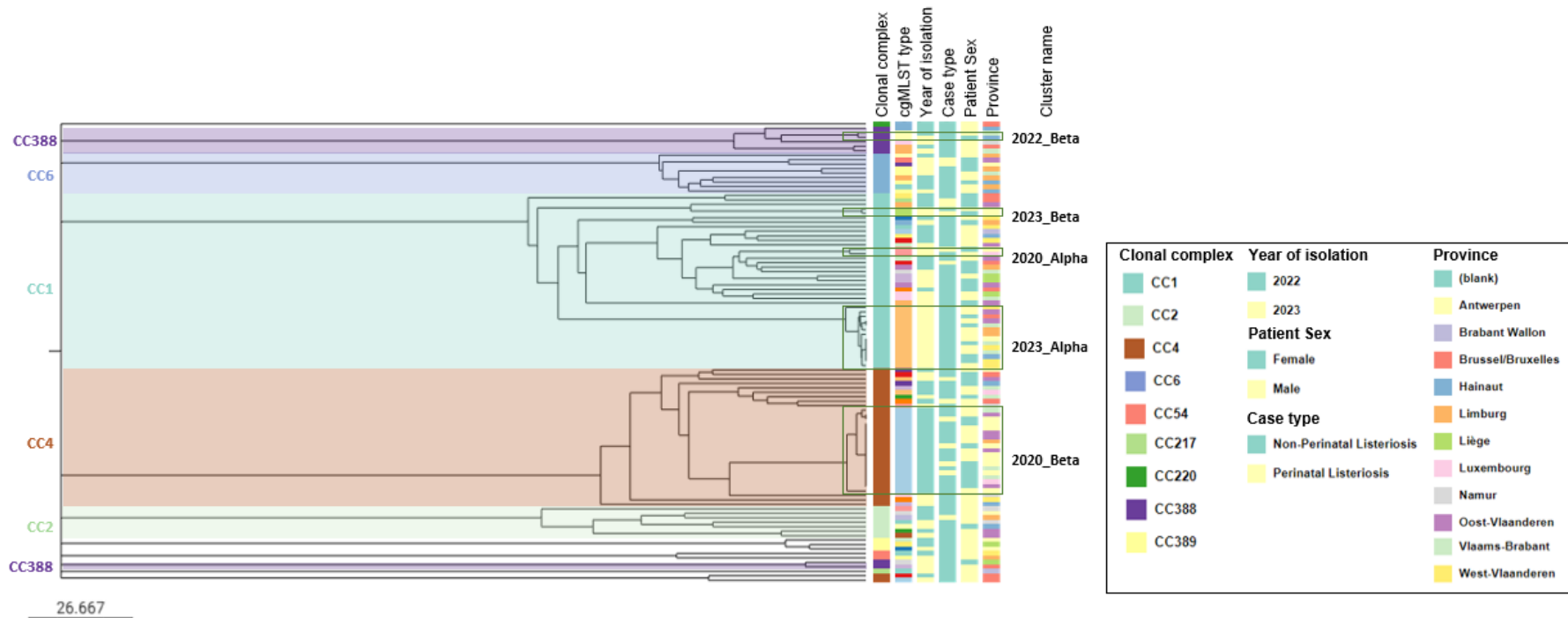
Deze cluster omvat 3 gevallen van het serotype 4b, clonaal complex CC388, sequence type ST388, en cgMLST type CT10031 met 0 tot 4 AD. Één perinataal geval van augustus 2021 leidde tot een doodgeboorte. De twee niet-perinatale gevallen werden geïsoleerd in februari 2022 en januari 2023, en was fataal in één geval. De gevallen kwamen uit drie verschillende provincies waarbij 2 Vlaams en 1 Waals was. Twee patiënten werden bevestigd, maar dit leverde geen vermoedelijke bron op.

### 2022\_GAMMA

Eind augustus en begin september 2022 werden 2 zwangerschapsgerelateerde gevallen geïdentificeerd bij 2 vrouwen uit Antwerpen. In 1 geval leidde dit tot een premature geboorte. De betrokken stammen die identiek waren op cgMLST niveau, waren van het serotype 1/2a, clonaal complex CC21, sequence type ST21 en cgMLST type CT13319. Beide vrouwen werden bevestigd en voedingsstalen werden onderzocht, maar er kon geen bron geïdentificeerd worden.

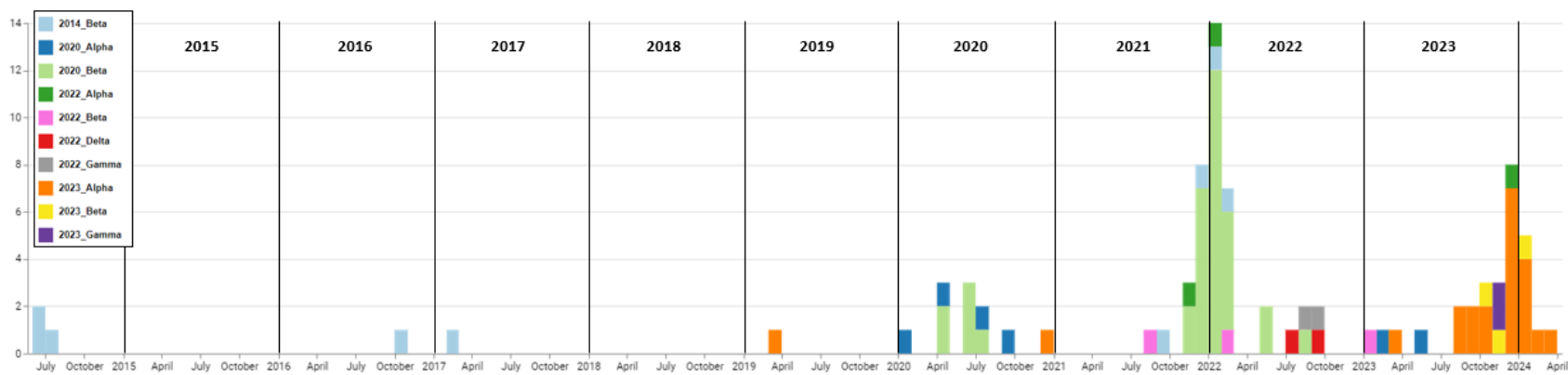


## LISTERIA SURVEILLANCE



**Figuur 10.** Dendrogram van de cgMLST profielen binnen de serogroepen IVb in 2022 en 2023.

Dendrogrammen gemaakt vanaf het cgMLST profiel (1748 genen) van elke stam geïsoleerd in 2022 en 2023. Allellische verschillen groter dan 200 worden niet op de figuur weergegeven. Voor elk isolaat worden het clonaal complex (CC), cgmlst type, jaartal, geslacht, Case Type en provincie van de patiënt weergegeven. Clusters worden omgeven door een groen kader.



**Figuur 11.** Epicurve van de uitbraken in 2022 en 2023.

Epicurve van de stammen die onderdeel waren van uitbraken die in 2022 en/of 2023 geïdentificeerd werden met een minimum van 2 stammen binnen een tijdsperiode van 12 maanden.

## 2022\_DELTA

In juli en september 2022 waren eveneens twee perinatale gevallen deel van een kleine cluster. De stammen die 3 AD verschilden, waren van het serotype 1/2b, clonaal complex CC77, sequence type ST77 en cgMLST type CT13317. Één geval was afkomstig uit Henegouwen en 1 uit Oost-Vlaanderen, waarbij één premature geboorte werd gemeld. Beide vrouwen werden bevroegd en voedingsstalen werden onderzocht, maar er kon geen bron geïdentificeerd worden.

## 2023\_ALPHA

Deze uitbraak van 22 gevallen van het serotype 4b, clonaal complex CC1, sequence type ST10 en cgMLST type CT8141, bereikte zijn hoogtepunt in de wintermaanden van 2023. Twintig gevallen werden geïsoleerd tussen maart 2023 en maart 2024, terwijl twee oudere gevallen van 2020 en 2019 ook genetische gelinkt werden aan de uitbraakstam. Drie gevallen waren geconcentreerd rond de regio Charleroi, terwijl de andere 19 gevallen verspreid over Vlaanderen werden vastgesteld. Het enige betrokken perinatale geval leidde tot een premature geboorte en sterfte van de pasgeborene kort na de geboorte. Bij de niet-perinatale gevallen werden 2 overlijdens gerapporteerd. 71% van de gevallen was mannelijk en de gemiddelde leeftijd bedroeg 79 jaar (range 53-94).

In oktober 2023 maakte ons NRC een Europese melding van de uitbraak (2023-FWD-00088). Er werden 2 gelinkte gevallen gedetecteerd in Nederland (uit 2021, en december 2023), en 4 in Duitsland (augustus en oktober 2023). In Duitsland werd eveneens een match gevonden met een voedingsstaal van rauw gerookte varkensham die bij nader onderzoek zijn origine had in een Belgische slachterij. Een uitgebreid onderzoek van verschillende voedingsstalen (uit recalls, monitoringssystemen en controles), resulteerde in de detectie van stammen die met de uitbraakstam clusterden voor 3 verschillende patés (staalname december 2023-januari 2024). Dit was in overeenstemming met de bevraging van de patiënten waarbij 6 personen de consumptie van paté bevestigden en alle 10 de bevroagden de consumptie van varkensvlees confirmeerden. De betrokken slachterijen en producenten werden verwittigd en de nodige maatregelen werden genomen.

## 2023\_BETA

Deze cluster omvat 2 gevallen van oktober-november 2023, geïsoleerd bij patiënten uit de provincie Antwerpen. De twee stammen met 1 AD verschil, van het serotype 4b, clonaal complex CC1, sequence type ST1 en cgMLST type CT15024, leidde tot een premature geboorte bij het perinatale geval en een sepsis bij het niet-perinatale geval. Er werd geen mogelijke voedingsbron opgespoord.

## 2023\_GAMMA

Deze laatste nationale cluster omvat een Brussels geval en één uit Henegouwen uit november 2023. Deze stammen (met 1 AD verschil) van het serotype 1/2a, clonaal complex CC1, sequence type ST451 en cgMLST type CT15045, veroorzaakten sepsis bij de twee betrokken niet-perinatale

gevallen (76-79 jaar). Informatie over een mogelijke voedingsbron werd niet bekomen.

## INTERNATIONALE UITBRAKEN

In 2022-2023 werden verschillende Europese Alerts gemaakt van listeriose uitbraken, in één of meerdere landen. In België werden stammen geïdentificeerd die betrokken waren bij 5 van deze uitbraken:

- 2022-FWD-00053: Grote uitbraak in de zomer van 2022 gerapporteerd door de Italiaanse instanties (1/2a, CC155, ST155, CT8026) die gelinkt werd aan specifieke vleeswaren (RASFF 4497/2022). Er werden ook gelinkte isolaten gedetecteerd in Frankrijk, Duitsland en Slovenië. Het gelinkte geval in België was een perinataal geval.
- 2022-FWD-00102: In december 2022 werd er door Frankrijk melding gemaakt van een kleine uitbraak (1/2a, CC475, ST504, CT11461) gelinkt aan vegan kaas gemaakt van amandelmelk (RASFF 2022.4196 & RASFF 2022.2311). In België was er een gelinkt geval van een jong meisje met gastroenteritis na het eten van organische kaas. Ook in Nederland en Duitsland werd telkens 1 gelinkt geval geïdentificeerd [18].
- UI-632 & 2022-FWD-00010: Deze persistente cluster (1/2a, CC19, ST173, CT3909) die initieel gemeld werd door Duitsland onder de naam "My2" en in 2022 door Nederland, blijft recente gevallen opleveren in (tot nu toe) 7 landen. In België werden in 2023 twee nieuwe (niet-perinatale) gevallen geïdentificeerd, bovenop de 3 gevallen uit 2019 en 2021. Deze cluster wordt gelinkt aan de consumptie van vis.
- UI-632 & 2023-FWD-00023: Deze persistente cluster (2011-2023) werd eveneens initieel gemeld door Duitsland in 2020 onder de naam "Omikron1", maar is nog steeds actief. In 2023 werden al 94 gevallen gemeld verspreid over 10 Europese landen [19]. In België gaat het om 17 gevallen, waarvan 1 recent in 2023. De bron van deze infectie wordt gelinkt aan de consumptie van gerookte zalm afkomstig uit een verwerkingsbedrijf in Litouwen (RASFF 2019.4292 en RASFF 2023.5976).

## 4. ONDERZOEK EN ONTWIKKELING



### 4.1 UITBRAKEN EN STUDIES

- Real-time opvolging van Europese uitbraken via het platform EpiPulse-FWD van ECDC
- Intern project in samenwerking met de dienst voedselpathogenen: Retrospectieve studie op voedingsisolaten om de potentiële bron van nationale humane clusters te identificeren op basis van NGS.
- Onderzoeksproject in samenwerking met Prof. Chris Michiels (KULeuven) en Prof. Jolein Masschelein (VIB) rond de genetische en structurele variatie van de genen binnen de genencluster LIP-3 (*Listeria* Pathogenicity Island 3) die verantwoordelijk is van de productie van listeriolysin S.

### 4.2 LOPENDE PROJECTEN

- Implementatie van **long-read sequencing** (minION, Oxford Nanopore) aan het NRC [20].
- Het **HERA-BE-WGS project** (2021-2024) wil het management en de uitwisseling van microbiële genomische en klinische/epidemiologische gegevens verbeteren dankzij de ontwikkeling van een overkoepelende nationale e-gezondheidsarchitectuur, be.Prepared genaamd. Dit landschap bestaat uit een centraal data warehouse voor het verzamelen en opslaan van gegevens van het Nationaal Referentiecentrum (NRC) (d.w.z. klinische, epidemiologische en klassieke microbiologische resultaten) en genomische microbiologische resultaten, alsmede een centraal BioIT-platform en een centraal NRC-platform. De geharmoniseerde, gestandaardiseerde verwerking en rapportage van deze gegevenstypen in be.Prepared vergemakkelijkt de tijdige en efficiënte identificatie van mogelijke nieuwe varianten of andere opkomende infectieziekten. Het huidige initiatief richt zich op gegevensuitwisseling en -ophaling voor rapportage aan diverse belanghebbenden op het gebied van volksgezondheid. Gegevensexport is essentieel om het gebruik van bestaande surveillance- en visualisatie-instrumenten buiten het healthdata.be-platform mogelijk te maken en nationale en internationale rapportage te waarborgen.

Daarnaast is er ook behoefte aan een minimale gegevensstroom naast de genomische microbiële gegevens naar het centrale BioIT-platform, die het gebruik van genomische analysesoftware voor geautomatiseerde clusterdetectie en interactieve clusterexploratie mogelijk maakt, bij voorkeur beschikbaar te stellen in de omgeving van het NRC-platform in een later stadium van het project. Data governance en authenticatie voor toegang tot data in alle onderdelen van de nationale eHealth infrastructuur is cruciaal, en procedures worden gedefinieerd in overleg met experts binnen en buiten Sciensano. Meer informatie kan je [hier](#) terugvinden.

### 4.3 NIEUWE BELAC-GEACCREDITEERDE PROCEDURES

/

### 4.4 PEER-REVIEWED PUBLICATIES

/

### 4.5 UITBRAAKONDERZOEK IN SAMENWERKING MET ECDC

- European Centre for Disease Prevention and Control, European Food Safety Authority. Prolonged multicountry cluster of *Listeria monocytogenes* ST155 infections linked to ready-to-eat fish products – 13 December 2023.
- European Centre for Disease Prevention and Control, European Food Safety Authority, 2024. Prolonged multicountry outbreak of *Listeria monocytogenes* ST173 linked to consumption of fish products – 19 June 2024.

## 5. REFERENTIES

1. Orsi RH, Liao J, Carlin CR, Wiedmann M. Taxonomy, ecology, and relevance to food safety of the genus *Listeria* with a particular consideration of new *Listeria* species described between 2010 and 2022. *mBio*. 2024 14;15(2):e0093823. doi: 10.1128/mbio.00938-23.
2. Leclercq A, Moura A, Vales G, Tessaud-Rita N, Aguilhon C, Lecuit M. *Listeria thailandensis* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2019 1;69:74–81. doi: 10.1099/ijsem.0.003097
3. Bertrand S, Ceyskens PJ, Yde M, Dierick K, Boyen F, Vanderpas J, et al. Diversity of *Listeria monocytogenes* strains of clinical and food chain origins in Belgium between 1985 and 2014. *PLoS One* 2016;11:1–16. doi: 10.1371/journal.pone.0164283
4. Bille, J., Rocourt J, Swaminathan B. *Listeria*, *Erysipelothrix*, and *Kurthia*. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editors. *Manual of clinical microbiology*. Washington, D.C.: American Society of Microbiology; 1999. p. p346-356.
5. Garrido A, Chapela MJ, Román B, Fajardo P, Vieites JM, Cabado AG. In-house validation of a multiplex real-time PCR method for simultaneous detection of *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157 and *Listeria monocytogenes*. *Int. J. Food Microbiol.* 2013;164:92–8. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2013.03.024
6. Le Monnier A, Abachin E, Beretti JL, Berche P, Kayal S. Diagnosis of *Listeria monocytogenes* meningoencephalitis by real-time PCR for the *hly* gene. *J. Clin. Microbiol.* 2011;49:3917–23. doi: 10.1128/JCM.01072-11
7. Seeliger HPR, Höhne K. Chapter II Serotyping of *Listeria monocytogenes* and Related Species. 1979. p. 31–49. doi: 10.1016/S0580-9517(08)70372-6
8. Kérouanton A, Marault M, Petit L, Grout J, Dao TT, Brisabois A. Evaluation of a multiplex PCR assay as an alternative method for *Listeria monocytogenes* serotyping. *J. Microbiol. Methods* 2010;80:134–7. doi: 10.1016/j.mimet.2009.11.008
9. Doumith M, Buchrieser C, Glaser P, Jacquet C, Martin P. Differentiation of the major *Listeria monocytogenes* serovars by multiplex PCR. *J. Clin. Microbiol.* 2004;42:3819–22. doi: 10.1128/JCM.42.8.3819-3822.2004
10. ECDC. Proficiency test for *Listeria monocytogenes* whole genome assembly – 2018. Stockholm: 2019.
11. Moura A, Criscuolo A, Pouseele H, Maury MM, Leclercq A, Tarr C, et al. Whole genome-based population biology and epidemiological surveillance of *Listeria monocytogenes*. *Nat. Microbiol.* 2016;2. doi: 10.1038/nmicrobiol.2016.185
12. ECDC. Listeriosis, Annual Epidemiological report for 2022. *Surveill. Rep.* 2024;2.
13. Moura A, Leclercq A, Vales G, Tessaud-Rita N, Bracq-Dieye H, Thouvenot P, Madec Y, Charlier C, Lecuit M. Phenotypic and genotypic antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes*: an observational study in France. *Lancet Reg Health Eur.* 2023 Dec 14;37:100800. doi: 10.1016/j.lanpe.2023.100800.
14. Baquero F, F Lanza V, Duval M, Coque TM. Ecogenetics of antibiotic resistance in *Listeria monocytogenes*. *Mol Microbiol.* 2020 Mar;113(3):570-579. doi: 10.1111/mmi.14454.
15. van de Beek D, Brouwer MC, Thwaites GE, Tunkel AR. Advances in treatment of bacterial meningitis. *Lancet* 2012;380:1693–702. doi: 10.1016/S0140-6736(12)61186-6
16. Lorber. *Listeria monocytogenes*. In: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, editors. *Infectious Disease Essentials*. 2017. p. 293–5
17. Van Walle I, Björkman JT, Cormican M, Dallman T, Mossong J, Moura A, et al. Retrospective validation of whole genome sequencing enhanced surveillance of listeriosis in Europe, 2010 to 2015. *Eurosurveillance* 2018;23:1–11. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2018.23.33.1700798
18. Leclercq A, Tourdjman M, Mattheus W, Friesema I, van Sorge NM, Halbedel S, Wilking H, Lecuit M. Outbreak of Listeriosis Associated with Consumption of Vegan Cheese. *N Engl J Med.* 2024 Apr 18;390(15):1439-1440. doi: 10.1056/NEJMc2400665.
19. ECDC, EFSA. Prolonged multi country cluster of *Listeria monocytogenes* ST155 infections linked to ready to eat fish products. 2023.
20. Bogaerts B, Van den Bossche A, Verhaegen B, Delbrassinne L, Mattheus W, Nouws S, Godfroid M, Hoffman S, Roosens NHC, De Keersmaecker SCJ, Vanneste K. Closing the gap: Oxford Nanopore Technologies R10 sequencing allows comparable results to Illumina sequencing for SNP-based outbreak investigation of bacterial pathogens. *J Clin Microbiol.* 2024 Mar 5:e0157623.

## CONTACT

An Van den Bossche, Ph.D • [An.vandenBossche@siensano.be](mailto:An.vandenBossche@siensano.be) • T+32 (0)2 373 31 19  
Wesley Mattheus • [Wesley.Mattheus@siensano.be](mailto:Wesley.Mattheus@siensano.be) • T +32 (0)2 373 32 24

VRAGEN, OPMERKINGEN OF  
MEER INFORMATIE :

[WWW.SCIENSANO.BE](http://WWW.SCIENSANO.BE)