

# CENTRE NATIONAL DE RÉFÉRENCE

## *LISTERIA MONOCYTOGENES*

Rapport annuel **2017**



**Sciensano**  
**Maladies infectieuses humaines - Maladies bactériennes**  
**CNR *Listeria monocytogenes***

Octobre 2020 • Bruxelles • Belgique

—  
VAN DEN BOSSCHE, AN

•

MATTHEUS, WESLEY

•

CEYSSENS, PIETER-JAN

An Van den Bossche, Ph.D. • T+32 (0)2 373 31 19 • An.vandenBossche@sciensano.be

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

Avec le support financier de:



Flanders  
State of the art



Veillez citer comme suit: Centre National de Référence pour *Listeria monocytogenes*, Rapport annuel 2017. Sciensano, Bruxelles, Belgique.

**Remerciements**

Nous voudrions exprimer notre gratitude aux inspecteurs de la santé qui réalisent les enquêtes auprès des patients, ainsi qu'aux laboratoires cliniques, qui participent à la surveillance de ces agents pathogènes en envoyant leurs souches. Nous remercions également l'Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire (AFSCA).

# POINTS PRINCIPAUX: LISTERIA HUMAINE

---

- En 2017, le Centre National de Référence a reçu 74 isolats de *Listeria monocytogenes* provenant de patients uniques. Cela correspond à une incidence de 0,65/100 000 habitants, ce qui est relativement élevé par rapport à la moyenne européenne de 0,42/100 000 habitants. Comme dans d'autres pays européens, la listériose a légèrement augmenté ces dernières années.
- Sur les 74 cas, 10 étaient une listériose périnatale. C'est le nombre le plus élevé depuis 2010. Dans 4 cas, l'infection a entraîné la mort du fœtus dans l'utérus. Dans 3 cas, l'infection a provoqué une naissance prématurée.
- Dans les 64 cas de listériose non périnatale, les symptômes les plus courants étaient la septicémie (56,3%), la méningite (6,3%) ou une combinaison des deux (7,8%). 4 décès ont été signalés. Ce dernier nombre est probablement une sous-estimation des chiffres réels.
- Sur les 64 cas de listériose non périnatale, 57,8% des cas étaient isolés chez les hommes et 40,6% chez les femmes. 78,6% des cas avaient plus de 60 ans et une affection sous-jacente a été signalée dans 50% des cas, le cancer (28,1%), les affections digestives (21,9%) et cardiovasculaires (15,6%) étant les plus communes.
- Comme les années précédentes, des souches de *Listeria* de sérotype 4b (35,1%) et 1/2a (44,6%) ont été identifiées principalement. Le sérotype 4b est resté stable ces dernières années, tandis que le sérotype 1/2a fluctue davantage.
- Toutes les souches de *Listeria* étaient sensibles aux 10 antibiotiques testés à deux exceptions près. (1) Une souche a été identifiée comme résistante au triméthoprim + sulfaméthoxazole. (2) 18 des 74 souches ont montré une résistance intermédiaire au chloramphénicol.
- Au sein du sérogroupe IVb, une diminution du complexe clonal CC1 a été observée ces dernières années, alors que les nombres de CC6 sont restés stables et que CC2 et CC4 ont augmenté. Au sein du sérogroupe IIa, il y avait principalement une forte diminution de CC8 et une forte augmentation de CC37 et CC155. Ces augmentations ne peuvent être liées à aucun foyer ou épidémie spécifique.
- Après le clustering basé sur cgMLST, cinq clusters ont été identifiés en 2017. Dans quatre cas, il s'agissait d'un petit cluster de 2 souches, et un cluster concernait 3 souches.
- En 2017, aucune souche belge n'était liée à des foyers européens. De même, aucune intoxication alimentaire causée par *L. monocytogenes* n'a été signalée en Belgique.

# TABLE DES MATIERES

## CONTENU

● POINTS PRINCIPAUX: LISTERIA HUMAINE	4
● 1. PREFACE	6
1.1. <i>Listeria monocytogenes</i>	6
1.2. Objectif	6
1.3. Qualité	6
● 2. METHODOLOGIE	8
2.1. Définitions	8
2.2. Collection de souches et de métadonnées	8
2.3. Identification	8
2.4. Sérotypage	8
2.5. Résistance aux antibiotiques	9
2.6. Typage moléculaire	9
● 3. RÉSULTATS DES ANALYSES DE ROUTINE	10
3.1. Collection de souches & épidémiologie	10
3.2. Distribution des sérotypes	12
3.3. Résistance aux antibiotiques	13
3.4. Typage moléculaire & épidémies	13
● 4. RECHERCHE ET DÉVELOPPEMENT	17
4.1. Epidémies et études	17
4.2. Projets en cours	17
4.3. Nouvelles procédures accréditées BELAC	17
4.4. Publications revues par les pairs	17
● 5. REFERENCES	18

# 1. PREFACE

## 1.1. LISTERIA MONOCYTOGENES

La listériose est une infection causée par la bactérie *Listeria monocytogenes*. Cette maladie bactérienne survient principalement chez les personnes dont le système immunitaire est affaibli (les personnes âgées, les personnes immunodéprimées, les femmes enceintes et les nouveau-nés). Le tableau clinique général de la listériose est une infection du système nerveux central et/ou une septicémie/bactériémie. En cas de grossesse, un avortement spontané ou une naissance prématurée peuvent survenir.

Dans la majorité des cas, la contamination par *L. monocytogenes* se fait par l'alimentation. Les cas surviennent généralement de manière isolée mais peuvent également avoir un caractère épidémique. La maladie a une faible incidence, mais compte tenu de la gravité de la maladie (mortalité dans 20 à 30% des cas), elle doit être étroitement surveillée en tant que problème de santé publique majeur.

Les bactéries du genre *Listeria* sont Gram positif et mobiles. Elles ne forment pas de spores et ne sont pas acido-résistantes. Leur habitat principal est le milieu de vie, où le germe est très résistant aux conditions de vie extrêmes telles que les basses températures et les pH bas/élevés.

Vingt espèces de *Listeria* ont été décrites, réparties en deux groupes: *Listeria sensu stricto* et *Listeria sensu lato*. Seule *Listeria monocytogenes*, qui fait partie du premier groupe, est considérée comme pathogène pour l'homme. Cependant, de rares cas d'infections humaines causées par *Listeria ivanovii* ont également été signalés, alors que cette espèce est normalement liée à la listériose animale [1,2].

L'espèce *L. monocytogenes* est divisée en 13 sérotypes reconnus et utilisés internationalement, à savoir 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e et 7. La plupart des souches isolées en Belgique appartiennent aux sérotypes 1/2a et 4b. Un aperçu de la diversité des souches de *L. monocytogenes* d'origine humaine et nutritionnelle en Belgique de 1985 à 2014 est décrit dans la publication Bertrand *et al.* 2016 [3].

## 1.2. OBJECTIF

La tâche principale du Centre National de Référence pour *Listeria* est d'assurer la surveillance épidémiologique des infections humaines à *Listeria monocytogenes*. Le but de cette surveillance est de détecter le plus rapidement possible les épidémies, ainsi que d'évaluer leur origine et, à terme, les tendances spatiales et temporelles de l'évolution de ce germe.

De plus, les souches de *Listeria*, isolées des aliments, sont également sérotypées. Cela permet d'établir un lien éventuel entre la source de contamination et l'épidémie humaine. La surveillance moléculaire de *Listeria*

*monocytogenes* est réalisée en effectuant un séquençage du génome entier (WGS) pour chaque souche humaine.

Sur la base de cette analyse, chaque souche est sous-typée en déterminant le type de séquence MultiLocus du génome principal (cgMLST). Le CNR surveille également la sensibilité aux antibiotiques des germes isolés.

Le CNR travaille en étroite collaboration avec le service «Epidémiologie des maladies infectieuses» de Sciensano, qui reçoit une liste annuelle du CNR des infections humaines confirmées à *Listeria*. Ces données sont ensuite transmises au réseau des Zoonoses et des Maladies alimentaires et hydriques (Organisation européenne pour les infections entériques de l'ECDC). Les données épidémiologiques sont, avec un accès limité, disponibles dans la base de données Sciensano pour consultation par les inspecteurs sanitaires communautaires. Les tendances générales sont accessibles au public sur <https://epistat.wiv-isp.be/dashboard/>.

Lorsqu'un foyer est suspecté, le CNR en informe le service «Epidémiologie des maladies infectieuses» et les inspecteurs sanitaires des communautés concernées, afin qu'une enquête sur les patients puisse être lancée. Par ailleurs, l'AFSCA (Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire) est informée d'une enquête sur des denrées alimentaires potentiellement contaminées. Les foyers sont également signalés à l'ECDC au niveau européen via la plateforme «EPIS FWD» (Epidemic Intelligence Information System - Food and Waterborne Diseases and Zoonoses).

Cette supervision permet de contrôler les foyers, de cartographier les mesures préventives et d'évaluer les mesures prises en faveur de la santé publique et de la protection des consommateurs.

## 1.3. QUALITÉ

L'unité « Maladies gastro-intestinales et méningite bactérienne » a plus de 50 ans d'expérience dans l'identification et le sérotypage de *L. monocytogenes*. Le CNR vise un standard de qualité élevé, tant dans le domaine des analyses et des études épidémiologiques que dans le domaine de la communication avec les correspondants et les clients.

En 2003, le Centre a introduit un système qualité officiel, NBN et ISO/EI 17025, pour officialiser la norme de qualité et depuis le 22 juin 2004, le centre est accrédité. Les techniques de typage moléculaire et de sous-typage sont accréditées selon la norme ISO15189 depuis juin 2012.

Ce système garantit l'exactitude et la validité des protocoles appliqués, la traçabilité des résultats de la recherche, l'exactitude des résultats et l'indépendance technique du laboratoire. Ce système qualité crée également un lien de

## PREFACE

confiance entre le Centre, ses correspondants et clients grâce à la qualité des analyses réalisées.

En plus de l'introduction de ce système qualité officiel, le CNR poursuit activement l'introduction de techniques de biologie moléculaire telles que le séquençage de nouvelle génération. Celles-ci permettent au Centre d'assurer et de mettre en œuvre son expertise dans les tâches nationales et internationales dans le cadre de la santé publique et de la protection des consommateurs.

## 2. METHODOLOGIE

### 2.1. DÉFINITIONS

La listériose est définie cliniquement lors de la présence d'au moins un des cinq symptômes suivants: fièvre, méningite/encéphalite, symptômes pseudo-grippaux, septicémie et/ou infections locales telles que arthrite, endocardite et abcès. En cas de grossesse, la listériose est associée à une fausse couche, un mort-né (à 20 semaines) ou une naissance prématurée (avant 37 semaines).

La définition de laboratoire d'une listériose correspond à une infection humaine dans laquelle la bactérie *Listeria monocytogenes* est isolée à partir d'une culture d'un site généralement stérile. Les listérioses sont classées en deux types sur la base des définitions ci-dessous :

- **La listériose périnatale (PNL)** est un cas où *L. monocytogenes* est isolé d'une culture chez une femme enceinte, d'un échantillon périnatal prélevé à la naissance ou d'un échantillon de nouveau-né ( $\leq 28$  jours). Dans ce cas, le site peut également être d'origine non stérile comme du tissu placentaire, du liquide amniotique, un écouvillon vaginal ou du méconium. La mère et l'enfant sont considérés comme un seul cas.
- **La listériose non périnatale (n-PNL)** est un cas où *L. monocytogenes* est isolé à partir d'une culture d'un site généralement stérile chez un adulte (à l'exclusion de la femme enceinte) ou dans de rares cas à partir d'un échantillon d'un enfant âgé de plus de 28 jours.

### 2.2. COLLECTION DE SOUCHES ET DE MÉTADONNÉES

Tout isolement d'une souche humaine de *L. monocytogenes* par les laboratoires cliniques est envoyé sur base volontaire au CNR, avec le formulaire d'information concernant la souche et l'épidémiologie.

Les métadonnées demandées comprennent l'âge, le sexe et le code postal du patient, ainsi que le tableau clinique associé et les informations en rapport avec des voyages récents, maladies sous-jacentes et évolution de la patiente ou grossesse dans les cas périnataux. En cas d'épidémie ou d'intoxication alimentaire collective, seules quelques souches de différents patients doivent être envoyées avec mention du nombre total de cas diagnostiqués.

À la réception, chaque échantillon reçoit un numéro unique sous la forme S17BD0xxxx et les métadonnées enregistrées sont entrées numériquement dans le système STARLIMS. Le rapport d'analyse avec l'identification bactérienne, le sérotypage et le profil de résistance aux antibiotiques doit être communiqué au laboratoire clinique. Après analyse, l'échantillon est conservé dans une collection à  $-80^{\circ}\text{C}$  dans 20% de glycérol.

La listériose est une maladie à déclaration obligatoire à Bruxelles et en Wallonie. Chaque cas confirmé de *L.*

*monocytogenes* est donc signalé par le CNR aux inspecteurs sanitaires compétents.

### 2.3. IDENTIFICATION

Le genre *Listeria* comprend 20 espèces, dont 7 sont caractérisées par un test de mobilité positif: les 6 espèces du groupe *Listeria sensu strictu* (*Listeria monocytogenes*, *Listeria marthii*, *Listeria innocua*, *Listeria welshimeri*, *Listeria ivanovii*, *Listeria seeligeri*) et *Listeria grayi*. Ces espèces se distinguent en outre par cinq tests biochimiques: test d'activité hémolytique, test d'activité phospholipase C spécifique du phosphatidylinositol (PI-PLC) et fermentation du mannitol, du xylose et du rhamnose [4].

En cas de doute, *L. monocytogenes* peut être identifié via MALDI-TOF (Biotyper, Brüker) ou une PCR développée en interne (voir 2.4).

Pour la détection de souches non cultivables à partir d'un environnement stérile (sang, liquide lombaire), on réalise une PCR en temps réel (RT-PCR) (Taqman qPCR Master mix, Diagenode), à partir d'un extrait d'ADN de l'échantillon. La détection de 2 gènes est vérifiée, *hey* et *lip*, comme décrit dans les publications de Garrison (2013) et Le Monnier (2011) [5,6].

### 2.4. SÉROTYPAGE

Le sérotype d'un *L. monocytogenes* est déterminé par une combinaison d'antigènes O somatiques et d'antigènes H flagellaires. Il existe actuellement 13 sérotypes reconnus: 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e et 7. Le sérotypage est effectué sur la base de tests d'agglutination classiques [7], en utilisant des antisérums fabriqués par Denka Seiken et distribués via Forlab.

**Table 1. Sérogroupes de *L. monocytogenes*.**

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

Lorsque le sérotypage n'est pas possible ou donne un résultat ambigu, le sérogroupage est réalisé par PCR interne. La présence de 6 gènes est recherchée: *prfA*, *prs*, *Imo0737*, *Imo1118*, ORF2110, ORF2819 [8,9]. Les sérogroupes décrits comprennent plusieurs sérotypes et sont présentés dans la table 1.



## 2.5. RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

Le CNR teste la sensibilité aux antibiotiques des souches humaines de *L. monocytogenes* pour 10 antibiotiques, en utilisant des E-tests commerciaux (Biodisk) selon les instructions du fabricant. L'interprétation est conforme à la recommandation du Comité européen sur les tests de sensibilité aux antimicrobiens (EUCAST) et du Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI). La gamme de test et les concentrations critiques sont indiquées dans la table 2.

**Table 2. Test de sensibilité aux antibiotiques via E-tests: gamme de test et valeurs critiques (µg / ml)**

S = sensible / I = intermédiaire / R = résistant

\* CLSI M45A2 / \*\* EUCAST

	Range	S	I	R
Ampicilline**	0.016 – 256	≤ 1		> 1
Gentamicine*	0.016 – 256	≤ 4	8	> 16
Amoxicilline*	0.016 – 256	≤ 4	> 4 - ≤ 16	> 16
Ciprofloxacine*	0.002 – 32	≤ 1	2	> 4
Chlooramfenicol*	0.016 – 256	≤ 8	16	> 32
Streptomycine*	0.064 – 1024	≤ 8	> 8 - ≤ 16	> 16
Vancomycine*	0.016 – 256	≤ 4	8 – 16	> 32
Erythromycine**	0.016 – 256	≤ 1		> 1
Tétracycline*	0.016 – 256	≤ 4	8	> 16
Triméthoprime** +sulfaméthoxazole	0.002 - 32	≤ 0.06		> 0.06

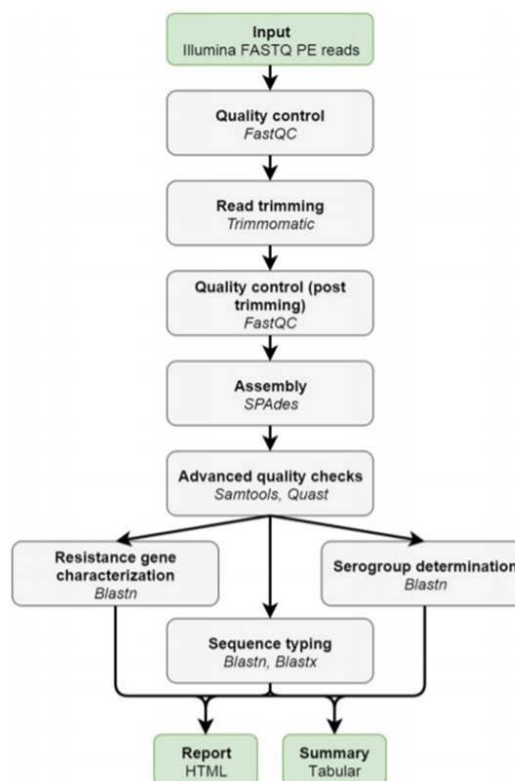
## 2.6. TYPAGE MOLÉCULAIRE

Historiquement, les souches humaines de *L. monocytogenes* ont été caractérisées moléculairement par deux méthodes classiques: (1) typage de séquences Multilocus (MLST), où un type de séquence ST est attribué sur la base de la séquence de 7 gènes domestiques; et (2) l'électrophorèse sur gel en champ pulsé (PFGE), en comparant les schémas de restriction après digestion de l'ADN avec les enzymes Apal et Ascl (pulsosvars).

Depuis 2016, cependant, le CNR est passé au séquençage du génome entier (WGS). L'ADN de chaque souche est extrait. Le WGS est réalisé avec MiSeq (Illumina) sur la base d'une préparation de banque Nextera. Pour l'analyse *in silico* des données, un pipeline sur mesure a été développé (Galaxy), illustré à la figure 1. La première partie de l'analyse consiste en un contrôle de qualité, un ajustement de lecture et un assemblage de séquences. Ce processus a été validé en 2018 par la participation réussie au «Test de compétence pour l'assemblage du génome entier de *Listeria monocytogenes*» organisé par l'ECDC [10]. Par la suite, les analyses bio-informatiques suivantes peuvent être effectuées: (1) caractérisation des gènes de résistance, (2) typage via MLST classique et génome de base MLST (cgMLST), et (3) détermination du sérotype.

Par cgMLST, 1748 gènes principaux (loci) sont séquencés [11], chaque séquence unique étant attribuée à un numéro d'allèle unique. Les analyses de foyers sont effectuées sur

la base du profil cgMLST obtenu pour déterminer la relation entre les souches. Cette relation est exprimée en «Différence Allélique» (AD), défini comme étant le nombre de loci avec un nombre d'allèles différent.



**Figure 1. Aperçu du flux de travail bioinformatique pour le séquençage du génome entier (WGS).**

## 3. RÉSULTATS DES ANALYSES DE ROUTINE

### LISTERIA MONOCYTOGENES HUMAINE

#### 3.1. COLLECTION DE SOUCHES & ÉPIDÉMIOLOGIE

En 2017, 149 échantillons humains ont été envoyés au CNR Listeria. Sur les 70 échantillons non cultivables (liquide lombaire, sang et sérum) qui ont été envoyés pour la détection de *L. monocytogenes*, aucun échantillon n'a été trouvé positif pour la présence de *L. monocytogenes*.

Au total, les souches de 74 cas uniques de listériose ont été envoyées au CNR et l'identification de *L. monocytogenes* a été confirmée. Cela correspond à une incidence de 0,65 cas /100 000 habitants. Ces incidences sont relativement élevées par rapport aux autres pays de l'UE (moyenne de 0,42 cas/100 000 habitants), mais correspondent à la tendance à la hausse de la listériose observée en Belgique et dans d'autres pays de l'UE au cours des 20 dernières années (Figure 2a ) [12].

Cette tendance à la hausse est principalement due à une augmentation des cas de n-PNL. En 2017, 10 cas de listériose périnatale et 64 cas non périnataux ont été détectés (Figure 2a). Étant donné que *L. monocytogenes* affecte principalement les personnes âgées (voir 3.1.3), l'augmentation peut être due à la proportion croissante de personnes âgées dans la population.

#### 3.1.1 ÉCHANTILLONS

La plus grande partie des souches de *Listeria* a été isolée du sang (75,7%). De plus, des souches ont également été isolées dans le liquide lombaire (6,8%), les fèces (1,4%), l'urine (1,4%) et le pus (4,1%). Dans deux cas périnataux, les souches provenaient d'une sécrétion urétrale/vaginale (Table 3).

Table 3. Origine des isolats.

Echantillon	N (PNL)	N (n-PNL)	N (Total)	%
Sang	4	52	56	75.7%
Liquide lombaire	1	4	5	6.8%
Fèces	0	1	1	1.4%
Urine	0	1	1	1.4%
Pus	0	3	3	4.1%
Sécrétion urétrale/vaginale	2	0	2	2.7%
Autre/inconnu	3	3	6	8.1%
Total	10	64	74	100.0%

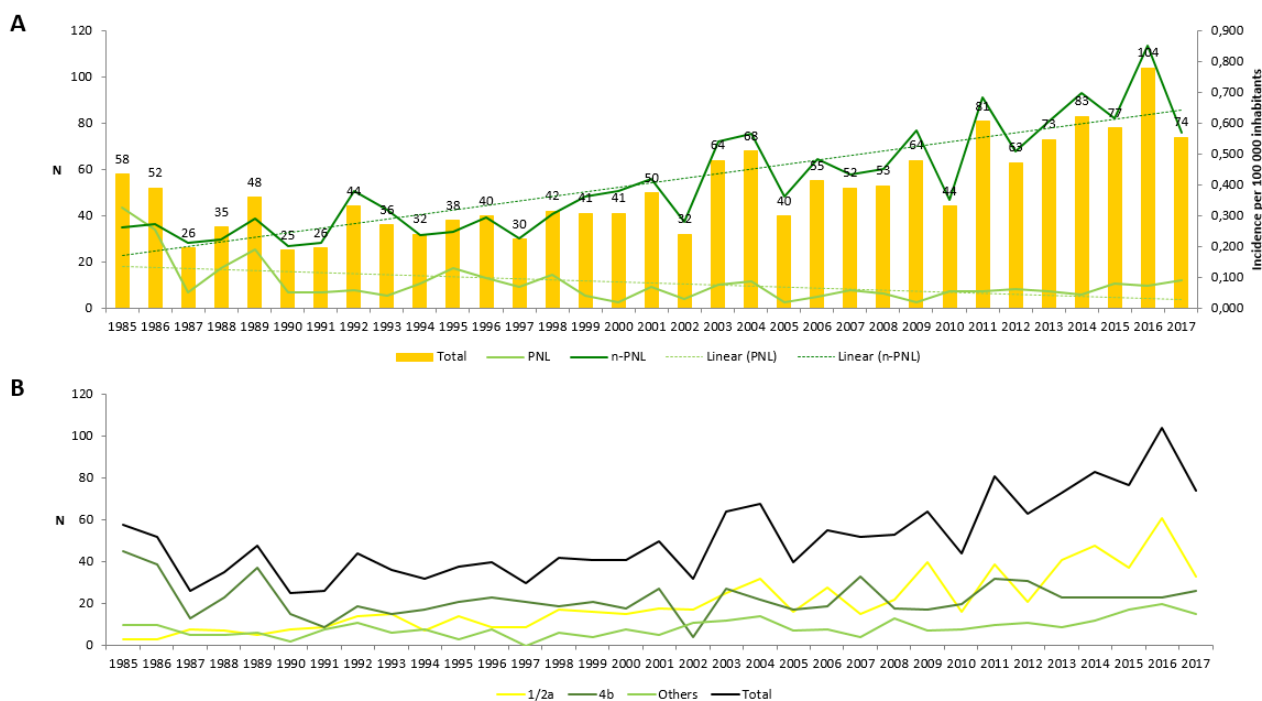


Figure 2. Aperçu du nombre de cas de listériose confirmés au CNR Listeria.

A. Nombre absolu et incidence de *L. monocytogenes* confirmés de 1985 à 2017. B. Nombre absolu de listérioses par sérotype de 1985 à 2017.

### 3.1.2 PATHOLOGIE CLINIQUE, MALADIES SOUS-JACENTES ET DÉCÈS

#### Cas périnataux

En 2017, 10 cas de listériose périnatale ont été confirmés au CNR. Bien que le nombre de cas de PNL ait considérablement diminué depuis 2000 grâce aux campagnes de prévention active auprès des femmes enceintes, en 2017, le plus grand nombre de cas périnataux a été enregistré depuis 2010: 13,5% du nombre total de cas contre 7,7% en 2016, 11,5% en 2015, 6% en 2014, 8,2% en 2013, 11,2% en 2012 et 7,4% en 2011 (figure 2a). Cela indique qu'il est toujours nécessaire de maintenir ces campagnes actives auprès des femmes enceintes.

Dans 2 cas, une septicémie a été diagnostiquée chez la mère et une chorioamnionite (infection bactérienne des membranes fœtales) dans 2 cas également. Dans 3 cas, la listériose a conduit à un accouchement prématuré. De plus, les infections ont provoqué un avortement spontané ou une mort à la naissance dans 4 cas. Il s'agit également du nombre absolu le plus élevé depuis 2010 (table 4). Il faut toujours tenir compte du fait que l'ensemble des métadonnées ne sont pas toujours fournies au CNR pour chaque cas signalé.

Une septicémie a été diagnostiquée chez un nouveau-né et une méningite chez un autre nouveau-né.

**Table 4. Conséquences des infections périnatales.**

ANNEE	Accouchement prématuré	Mort <i>in utero</i>	Mort à la naissance	Inconnu	N (PNL)
2010	0	1	0	5	6
2011	0	3	1	2	6
2012	0	3	0	4	7
2013	1	1	0	4	6
2014	2	1	0	2	5
2015	7	1	0	0	8
2016	3	2	0	3	8
2017	3	4	0	3	10

#### Cas non-périnataux

Dans les cas non périnataux, la septicémie (56,3%), la méningite (6,3%) ou une combinaison des deux (7,8%) sont les affections les plus courantes (table 5). Dans 3 cas, d'autres conditions ont été signalées, telles qu'une pneumonie, une prothèse infectée et des symptômes pseudo-grippaux. Dans 25% des cas, aucune donnée clinique n'a été rapportée.

Quatre décès ont été enregistrés (6,25% des cas non périnataux), ce qui est comparable aux chiffres des années précédentes (1 à 6 décès). Il convient de noter qu'il s'agit probablement d'une sous-estimation en raison d'une sous-déclaration au CNR. En Europe, une mortalité de 13,7% des cas de listériose a été notifiée à l'ECDC en 2017 [12].

**Table 5. Pathologie des cas non périnataux.**

Pathologies	N (n-PNL)	% (n-PNL)
Septicémie	36	56.3%
Méningite	4	6.3%
Septicémie + Méningite	5	7.8%
Autre	3	4.7%
Inconnu	16	25.0%
Total	64	100.0%

Pour 32 des 64 cas non périnataux (50%), une affection sous-jacente a été signalée au CNR (table 6). Les affections les plus courantes sont le cancer (28,1%), les affections digestives (21,9%) et les maladies cardiovasculaires (15,6%). Ce pourcentage élevé de maladies sous-jacentes démontre que les personnes dont le système immunitaire est affaibli sont particulièrement sensibles à l'infection à *Listeria*.

**Table 6. Etats sous-jacents dans les cas non périnataux.**

Etats sous-jacents	N (n-PNL)	% (n-PNL)
Cancer	9	28.1%
Affections digestives	7	21.9%
Affections cardio-vasculaires	5	15.6%
Immunosuppression iatrogène	1	3.1%
Immunosuppression	4	12.5%
Troubles rénaux	2	6.3%
Affections respiratoires	3	9.4%
Alcoolisme / cirrhose	0	0.0%
Chirurgie	1	3.1%
Infections	0	0.0%
Transplantation	0	0.0%
Inconnu	32	50.0%
Total	64	100.0%

### 3.1.3 DISTRIBUTION D'ÂGE ET DE SEXE

#### Cas périnataux

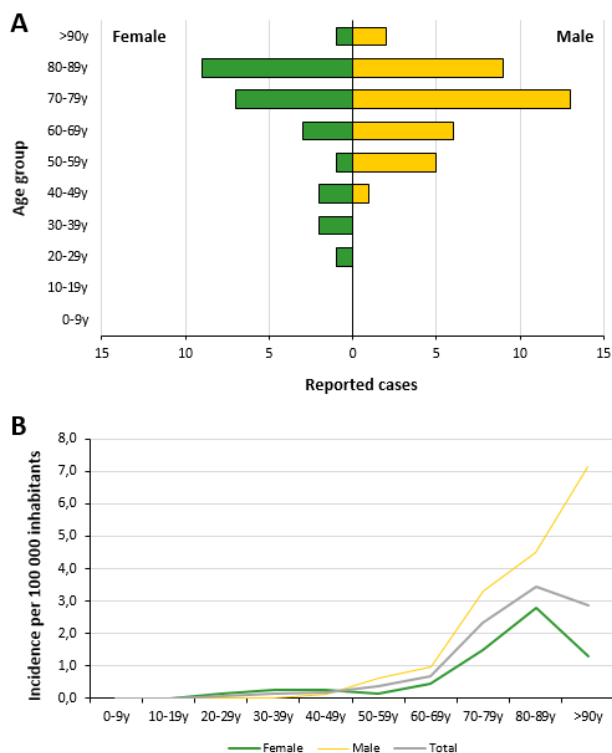
Pour les cas périnataux, l'âge moyen de la mère est de 31,6 ans.

#### Cas non-périnataux

Les listérioses non périnatales sont les plus courantes dans les groupes plus âgés de la population (figure 3). 78,1% des cas ont plus de 60 ans, avec un âge moyen de 71,2 ans. Ces données sont comparables aux années précédentes, où l'âge moyen variait entre 65,2 et 72,7 ans. Cela confirme que l'âge est un facteur de risque d'infections à *Listeria*. L'une des raisons à cela est que les personnes âgées ont plus souvent des pathologies sous-jacentes (voir 3.1.2).

57,8% des cas confirmés de listériose non périnatale ont été isolés chez les hommes contre 40,6% chez les femmes (ratio 1,42). Dans un cas, le sexe n'a pas été signalé au CNR. Conformément à ces chiffres, l'incidence est plus élevée chez les hommes (0,66 cas pour 100 000 habitants) que chez les femmes (0,45 cas pour 100 000 habitants).

Surtout chez les hommes plus âgés, on observe des incidences élevées avec 3,32 cas/100 000 habitants dans la tranche d'âge 70-79 ans, 4,51 cas/100 000 habitants dans les 80-89 ans et même 7,14 cas/100 000 habitants chez les hommes de plus de 90 ans.



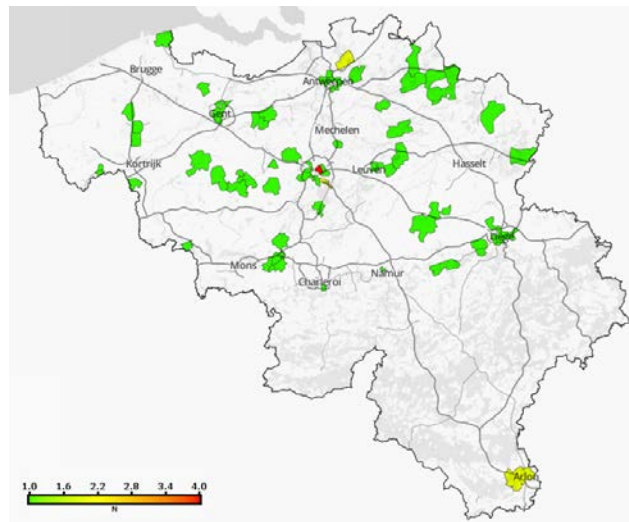
**Figure 3. Répartition des cas de listériose non périnatale par sexe et groupe d'âge, en 2017.**

A. Pyramide des âges des listérioses non périnatales confirmées.  
B. Incidence (pour 100 000 habitants) par groupe d'âge.

Ces chiffres sont en ligne avec les moyennes européennes de 55,2% des cas identifiés chez les hommes contre 44,5% chez les femmes. En Europe, 67,1% des cas avaient plus de 65 ans [12].

### 3.1.4 DISTRIBUTION GÉOGRAPHIQUE

La figure 4 montre le nombre absolu de cas de listériose déclarés par commune. Sur la base de la géographie, aucun foyer ne peut être observé et ce sont probablement des cas isolés.



**Figure 4. Répartition du nombre absolu de listériose par commune, en 2017.**

Les données sont enregistrées par lieu de résidence du patient. Carte réalisée via Gemeentemap.be

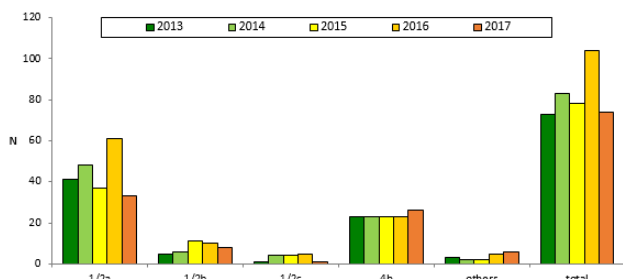
### 3.2. DISTRIBUTION DES SÉROTYPES

La table 7 donne un aperçu de la distribution des sérotypes de *L. monocytogenes* identifiés en 2017. Comme les années précédentes, les sérotypes 1/2a et 4b sont les sérotypes les plus courants en Belgique, avec 33 (44,6%) et 26 (35,1%) des cas. Comme mentionné en 2.4, le sérotypage moléculaire est effectué sur les souches pour lesquelles le sérotypage classique est ambigu. Étant donné que les sérogroupes contiennent plusieurs sérotypes (Table 1), ils sont présentés séparément dans la table 7.

**Table 7. Distribution des sérotypes de *L. monocytogenes*.**

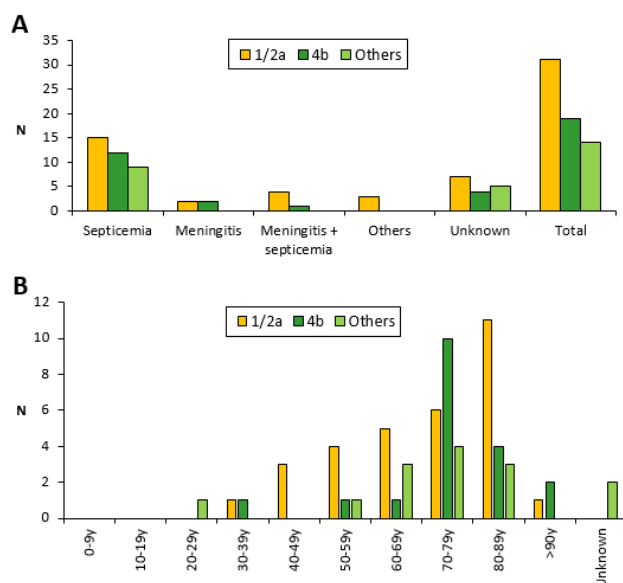
SEROTYPES	PNL	n-PNL	N	%
1/2a	2	31	33	44.6%
1/2b		8	8	10.8%
1/2c		1	1	1.4%
3a		1	1	1.4%
4b	7	19	26	35.1%
IIa	1	2	3	4.1%
IIb		1	1	1.4%
IVb		1	1	1.4%
<b>Totaal</b>	<b>10</b>	<b>64</b>	<b>74</b>	<b>100.0%</b>

Lorsque la fréquence des sérotypes est comparée aux années précédentes, on constate que la prévalence du sérotype 4b est restée assez stable ces dernières années. La tendance à la hausse des cas de listériose est principalement due aux fluctuations de la prévalence du sérotype 1/2a (figures 2b et 5).



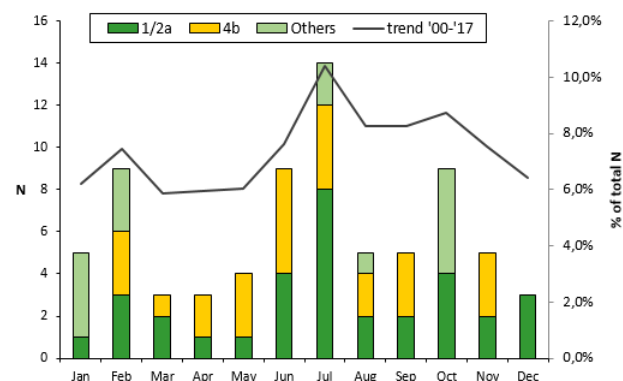
**Figure 5. Distribution des sérotypes au cours des 5 dernières années.** Nombre absolu des sérotypes 1/2a, 1/2b, 1/2c, 4b et autres.

Dans la figure 6, la distribution des sérotypes des cas non périnataux est examinée par pathologie et par catégorie d'âge. Bien qu'il y en ait plus dans les groupes d'âge 70-79 ans et 80-89 ans respectivement, un plus grand nombre d'isolats 4b et 1/2a ont été identifiés dans tous les groupes d'âges, il n'y a donc pas un lien significatif. La répartition des sérotypes sur les différentes catégories est donc proportionnelle à la prévalence du sérotype respectif, de la pathologie ou de la catégorie d'âge.



**Figure 6. Répartition des sérotypes des cas non périnataux en 2017.**

**A.** Distribution par pathologie **B.** Distribution par catégorie d'âge



**Figure 7. Distribution des sérotypes par mois en 2017.**

La figure 7 montre la distribution mensuelle du nombre d'infections à *Listeria* par sérotype. Les infections se produisent tout au long de l'année, avec un petit pic pendant les mois d'été (voir la ligne de tendance 2000-2017). La même distribution est également visible en 2017. L'apparition de sérotypes spécifiques est également uniformément répartie tout au long de l'année. Néanmoins, un pic de sérotype 1/2a est perceptible au mois de juillet. Après l'analyse des foyers (voir 3.4), il peut être exclu qu'il s'agisse d'une épidémie de cas liés.

### 3.3. RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

*L. monocytogenes* présente une résistance intrinsèque aux céphalosporines de troisième génération, aux quinolones de première génération, à la fosfomycine et à l'acide nalidixique [13,14]. Heureusement, les résistances acquises contre d'autres antibiotiques restent faibles pour le moment. La listériose est traitée de manière standard avec de l'ampicilline/amoxicilline et, en raison de l'effet synergique, un aminoside est souvent associé tel que la gentamicine [15,16]. En cas d'intolérance aux bêta-lactamines, le triméthoprime-sulfaméthoxazole est administré [16].

Tous les isolats de *Listeria* envoyés au CNR sont testés pour leur sensibilité à 10 antibiotiques (voir 2.5). Comme les années précédentes, la plupart des isolats sont sensibles à tous les antibiotiques testés. Il y a deux exceptions en 2017 (Figure 8).

- Par exemple, 18 souches sur 74 présentent une résistance intermédiaire au chloramphénicol. Ceci est conforme à l'observation des années précédentes, où la CMI50 est passée de 4 µg/ml à 8 µg/ml et la CMI90 de 4 à 12 µg/ml.
- Une résistance au triméthoprime + sulfaméthoxazole a été notée pour une souche. Cela a été observé pour la dernière fois en 2008.

Les causes génétiques de ces résistances (intermédiaires) n'ont pas pu être déterminées (sur base du WGS, voir 2.5).

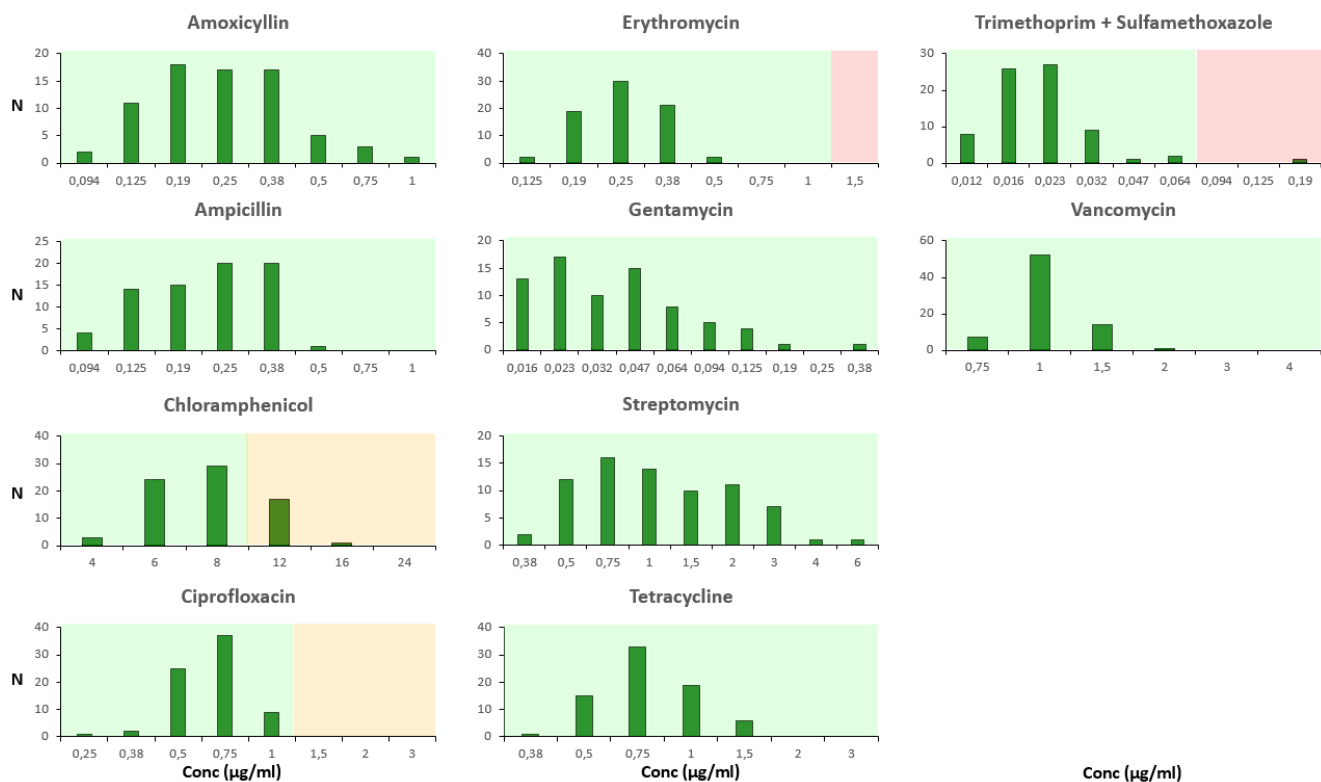
### 3.4. TYPAGE MOLÉCULAIRE & ÉPIDÉMIES

Depuis 2016, toutes les souches envoyées au CNR sont analysées par WGS. Diverses analyses et typages moléculaires peuvent être effectués sur la base de ces données WGS.

À partir des données WGS brutes, le profil MLST classique à 7 gènes et le complexe clonal associé de chaque isolat sont d'abord déterminés. La figure 9 donne un aperçu de l'abondance des complexes clonaux les plus courants au cours des 5 dernières années.

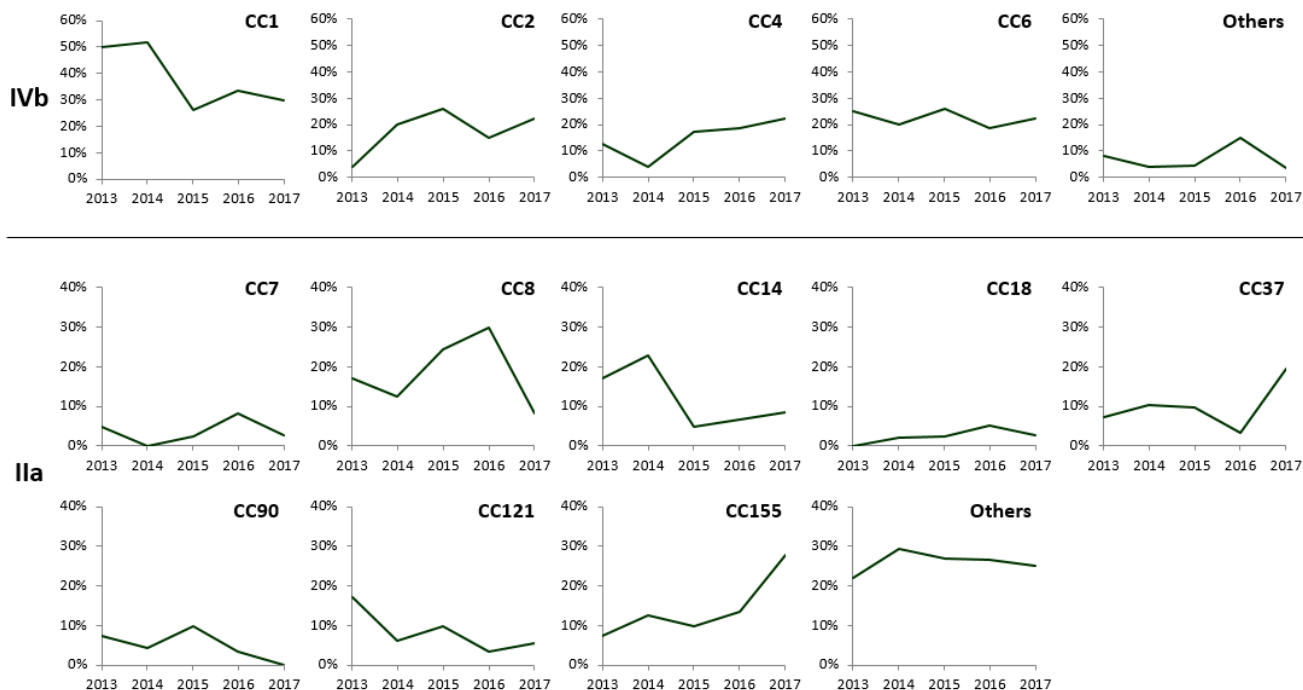
Au sein du sérotype IVb, il existe quatre complexes clonaux les plus courants CC1, CC2, CC4 et CC6. On constate que l'abondance de CC1 a diminué ces dernières années, tandis que l'abondance de CC2 et CC4 a augmenté. Au sein du sérotype IIa, les isolats sont répartis sur un plus grand nombre de complexes clonaux. La forte abondance du complexe clonal CC8 au cours des deux dernières années n'a plus été observée en 2017.

## SURVEILLANCE LISTERIA



**Figure 8. Distribution de la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées en 2017.**

Chaque graphique montre le nombre d'isolats en fonction de la sensibilité aux antimicrobiens, par antibiotique. Les valeurs vertes sont classées comme sensibles, les valeurs oranges comme intermédiaires et les valeurs rouges comme résistantes.



**Figure 9. Répartition en pourcentage des complexes clonaux au sein des sérogroupes IVb et IIa en 2013-2017.**

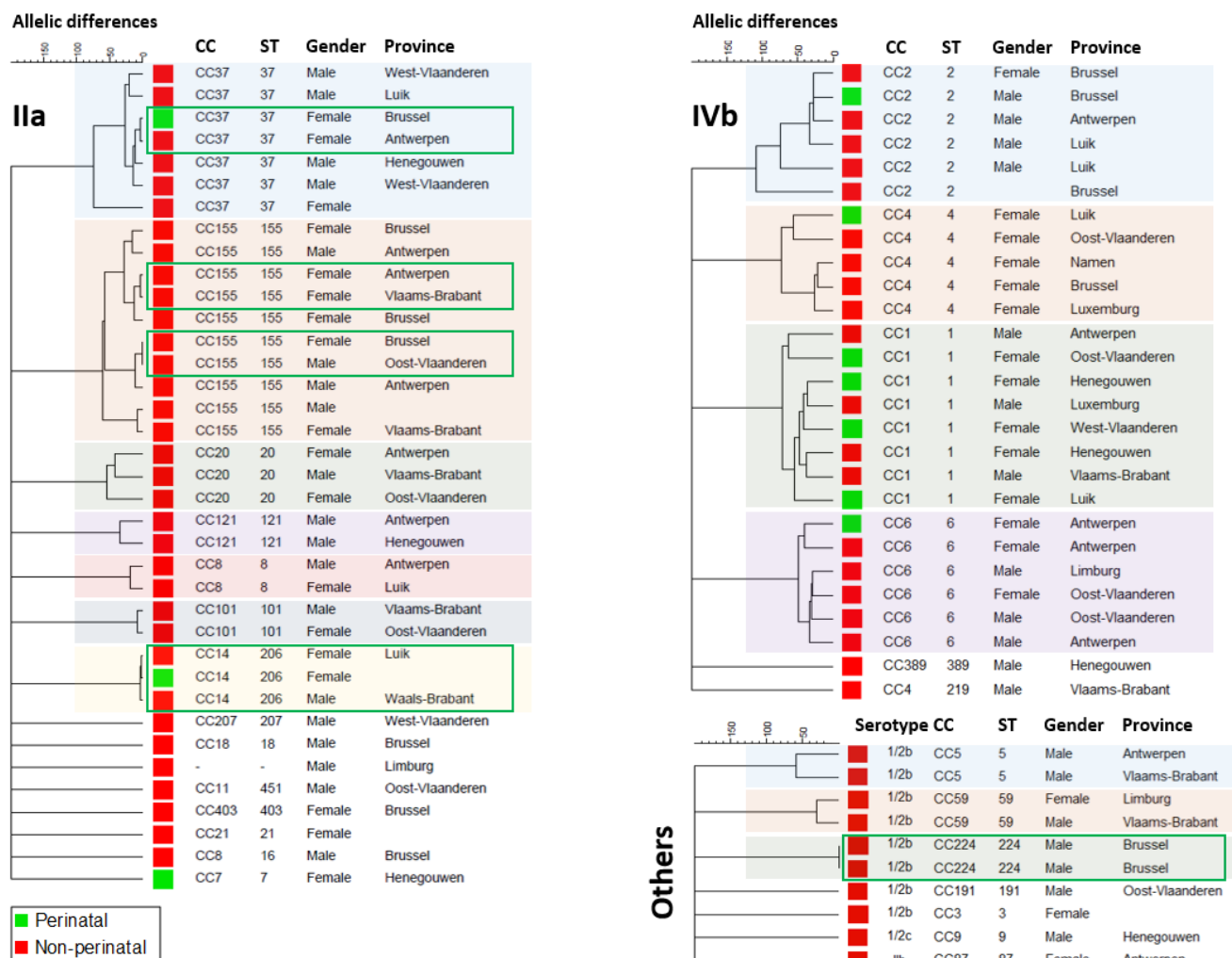
Chaque graphique représente l'abondance relative (%) d'un complexe clonal par rapport au nombre total d'isolats avec les sérogroupes IVb et IIa, respectivement, au cours des 5 dernières années. Les complexes clonaux les plus courants sont présentés séparément. Les complexes clonaux de faible abondance ont été regroupés dans le groupe «Others».

Ce nombre élevé d'isolats de CC8 a été lié par une enquête plus approfondie à une épidémie de listériose dans au moins 14 pays de l'UE/EEE (European Urgent Inquiry UI-492), les premiers isolats datant de 2009 [17]. Bien que seulement 2 isolats aient été identifiés comme CC8 en 2017, les deux isolats peuvent être associés à ce vaste groupe d'isolats après l'analyse cgMLST. Cependant, aucune cause/source alimentaire n'a encore été identifiée pour cette épidémie. En 2017, des abondances plus élevées ont été principalement observées pour le complexe clonal CC37 et CC155. Ces cas ont été observés tout au long de l'année et dans différentes provinces.

Les isolats ont été analysés plus en détail à l'aide du cgMLST (1748 gènes MLST). La figure 10 montre un dendrogramme des profils cgMLST des isolats des sérogroupes IVb, IIa et des groupes restants, respectivement. Les différences alléliques supérieures à 200 ne sont pas indiquées. La figure montre clairement que

les isolats au sein du même groupe de profil MLST sont dans 1 branche du dendrogramme, mais le nombre de différences alléliques entre les souches du même profil peut être supérieur à 100.

Deux isolats sont considérés comme un cluster lorsqu'il y a un maximum de 7 différences alléliques (allelic differences, AD) entre les deux profils cgMLST [18]. En 2017, 4 clusters de 2 souches et 1 cluster de 3 souches ont été identifiés (encadrés verts Figure 10). Il est frappant que l'augmentation du nombre d'isolats CC37 et CC155 ne soit pas due à une épidémie générale, mais qu'il existe 3 clusters séparés répartis sur les deux complexes. Géographiquement, il n'y a qu'un lien entre les deux cas de CC224 qui ont tous deux été isolés chez des patients de la Région de Bruxelles-Capitale.



**Figure 10. Dendrogramme des profils cgMLST au sein des sérogroupes IVb et IIa en 2017.** Dendrogrammes réalisés à partir du profil cgMLST (1748 gènes) de chaque souche isolée en 2017 pour les sérogroupes IVb, IIa et les autres «Others», respectivement. Les différences alléliques supérieures à 200 ne sont pas représentées sur la figure. Pour chaque isolat, le sexe du patient (gender), le type de séquence MLST (ST), le complexe clonal (CC) et la province sont indiqués. Pour les souches ne faisant pas partie des sérogroupes IVb ou IIa, le sérotype est également indiqué. Les souches isolées des cas périmataux sont précédées d'un carré vert, les souches associées aux cas non périmataux d'un carré rouge. Les isolats du même complexe clonal sont identifiés avec la même couleur. Les 5 clusters détectés sont entourés d'un cadre vert.

En 2017, quatre foyers ont été signalés à l'ECDC parmi lesquels des isolats ont été isolés dans plusieurs pays européens. Pour trois de ces foyers, un rapport a été préparé par l'ECDC et l'EFSA (Agence européenne de sécurité des aliments). Cela comprenait une épidémie liée aux légumes surgelés (UI-444), une épidémie liée au saumon de Pologne (UI-426) et une épidémie liée au saumon fumé en Estonie (UI-452) [19–21]. Dans aucun de ces foyers, des isolats belges identifiés n'ont pu être liés.

En Belgique, les données sur les intoxications alimentaires sont traitées par différentes autorités, telles que l'AFSCA et les inspecteurs sanitaires régionaux. Toutes ces données sont collectées par le Laboratoire National de Référence des Toxi-Infections Alimentaires (LNR-TIA) de Sciensano et compilées dans un rapport annuel. Fait remarquable, aucun rapport d'intoxication alimentaire liée à des infections à *Listeria monocytogenes* n'a été fait pour 2017 [22].



## 4. RECHERCHE ET DÉVELOPPEMENT



### 4.1. EPIDÉMIES ET ÉTUDES

- Surveillance en temps réel des foyers européens via la plateforme EPIS-FWD de l'ECDC
- Participation au groupe d'étude ELiTE II (European Listeria Typing Exercise) organisé par l'ECDC et l'EFSA (2016-2018)

### 4.2. PROJETS EN COURS

- Implémentation du MALDI-TOF dans le flux de travail
- Implémentation du séquençage du génome complet dans les analyses de routine

### 4.3. NOUVELLES PROCÉDURES ACCRÉDITÉES BELAC

- SOP 12/MA/01/E MALDI-TOF pour l'identification des espèces non-mycobactériennes

### 4.4. PUBLICATIONS REVUES PAR LES PAIRS

- Maertens de Noordhout C, Devleesschauwer B, Haagsma JA, Havelaar AH, Bertrand S, Vandenberg O, Quoilin S, Brandt PT, Speybroeck N.(2017) Burden of salmonellosis, campylobacteriosis and listeriosis: a time series analysis, Belgium, 2012 to 2020. **Euro Surveill.** 22(38) : 30615.

## 5. REFERENCES

1. Orsi RH, Wiedmann M. Characteristics and distribution of *Listeria* spp., including *Listeria* species newly described since 2009. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2016;100:5273–87. doi: 10.1007/s00253-016-7552-2
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. 346-356.
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 2017. *Surveill. Rep.* 2020;6.
13. Krawczyk-Balska A, Markiewicz Z. The intrinsic cephalosporin resistome of *Listeria monocytogenes* in the context of stress response, gene regulation, pathogenesis and therapeutics. *J. Appl. Microbiol.* 2016;120:251–65. doi: 10.1111/jam.12989
14. Baquero F, F. Lanza V, Duval M, Coque TM. Ecogenetics of antibiotic resistance in *Listeria monocytogenes*. *Mol. Microbiol.* 2020;113:570–9. 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. ECDC, EFSA. Cross-border event – Prolonged multi-country cluster of *Listeria monocytogenes* clonal complex 8, sequence type 8 [CC8.WGS4]. 2018.
18. 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
19. ECDC, EFSA. Multi-country outbreak of *Listeria monocytogenes* serogroup IVb, multi-locus sequence type 6, infections linked to frozen corn and possibly to other frozen vegetables. 2018.
20. ECDC, EFSA. Multi-country outbreak of *Listeria monocytogenes* sequence type 8 infections linked to consumption of salmon products. 2018. doi: 10.2903/sp.efsa.2019.en-1745
21. ECDC, EFSA. Multi-country outbreak of *Listeria monocytogenes* clonal complex 8 infections linked to consumption of cold-smoked fish products. 2019. doi: 10.2903/sp.efsa.2019.en-1665
22. Denayer S, Delbrassinne L, Verhaegen B, Botteldoorn N. Annual Report on foodborne outbreaks in Belgium 2017. 2018.

## CONTACT

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



QUESTIONS, REMARQUES OU  
PLUS D'INFORMATIONS :

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