

# The Times They Are A-Changin'

## Uitbraken van voedselinfecties onder de loep

Eelco Franz, Menno van der Voort, Roan Pijnacker, Coen van der Weijden, Thijs Bosch

### Samenvatting

Regelmatig vinden er in Nederland landelijke voedselgerelateerde uitbraken plaats met gastro-intestinale ziekteverwekkers zoals *Salmonella*, *Listeria*, of shigatoxineproducerende *E. coli* (STEC). Deze uitbraken kunnen worden gedetecteerd dankzij een nationale kiemsurveillance die door het RIVM wordt uitgevoerd op basisstammen die worden ingestuurd door medisch-microbiologische laboratoria. Bij een uitbraak wordt samen met de Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit (NVWA) en Wageningen Food Safety Research (WFSR) bronopsporing uitgevoerd. Bij het RIVM wordt whole-genome sequencing (WGS) gebruikt als standaard-typeringsmethode zodat clusters en uitbraken beter herkend kunnen worden. Ook stammen uit voedsel worden in toenemende mate door WFSR getypeerd met WGS, die worden gedeeld en samengebracht met de WGS-data van patiënten. Wanneer een stam uit voedsel op basis van WGS overeenkomt met die van patiënten kan nu sneller actie worden ondernomen als het gaat om opsporing en eventuele uitschakeling van de bron. Een ontwikkeling naar meer moleculaire diagnostiek die niet gevolgd wordt door kweek is een belangrijke bedreiging voor de landelijke surveillance en bronopsporing.

### Summary

National food-related outbreaks with enteric pathogens such as *Salmonella*, *Listeria*, or Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) occur in the Netherlands on a regular basis. These outbreaks can be detected thanks to a national isolate-based surveillance carried out by RIVM based on isolates submitted by medical microbiological laboratories. In the event of an outbreak, source tracing is carried out together with the Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority (NVWA) and Wageningen Food Safety Research (WFSR). Whole-genome sequencing (WGS) is used as a standard

typing method at RIVM so that clusters and outbreaks can be better identified. Also strains from food are increasingly typed by WFSR with WGS which are shared in real-time and brought together with the WGS data of patients. When a strain from food matches that of patients, based on WGS, action can now be taken more quickly regarding the identification and possible elimination of the source. A development towards more molecular diagnostics that is not followed by culture is an important threat to national surveillance and source detection.

### Inleiding

Regelmatig vinden er in Nederland voedselgerelateerde uitbraken plaats met gastro-intestinale ziekteverwekkers. Jaarlijks gaat het om ruim 700 geregistreerde voedselgerelateerde uitbraken en rond de 700.000 voedselgerelateerde infecties in Nederland met een totaal aan maatschappelijke kosten van 170 miljoen euro [1]. Sommige uitbraken zijn zo omvangrijk of bijzonder vanwege bijvoorbeeld economische schade [2] dat er naast wetenschappelijke belangstelling ook aanzienlijke aandacht in de media is, zoals bij de uitbraak van *Salmonella enteritidis*

Centrum Infectieziektebestrijding, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM), afdeling Epidemiologie en Surveillance Enterale Infecties en Zoönosen, dr. E. Franz, afdelingshoofd.  
Wageningen Food Safety Research (WFSR), dr. M. van der Voort, programmaleider Microbiologie en projectleider Genomics; dr. R. Pijnacker, epidemioloog enterale infecties en zoönosen; afdeling Bacteriële en Parasitologische Diagnostiek, dr. T. Bosch, afdelingshoofd.  
Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit (NVWA), ing. C.C. van der Weijden, senior inspecteur Microbiologie. Correspondentieadres: dr. E. Franz (eelco.franz@rivm.nl).

geassocieerd met Poolse eieren in 2016/2017 [3] of de *Listeria*-uitbraak afkomstig van één specifieke productiefaciliteit [4]. In Nederland vindt intensieve monitoring en surveillance plaats om trends te monitoren, risico's te inventariseren en uitbraken vroegtijdig te signaleren. Hierbij werken het Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM), de Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit (NVWA) en Wageningen Food Safety Research (WFSR) intensief samen. In dit artikel geven wij een overzicht hoe we door middel van de huidige technieken landelijk surveillance uitvoeren op voedselinfecties, hoe we in samenwerking uitbraken detecteren en traceren naar de bron, en hoe we het toekomstige surveillance-landschap zien in het licht van de huidige ontwikkelingen en trends.

## Landelijke surveillance humane infecties

Het Centrum Infectieziektebestrijding van het RIVM heeft de opdracht van het Ministerie van VWS om adequate surveillance en onderzoek uit te voeren naar gastro-enterale infecties (inclusief voedselinfecties) in Nederland. Landelijke surveillance vormt de basis van vroegtijdige signalering van verheffingen en uitbraken van voedselgerelateerde infecties. Voor een aantal ziekteverwekkers bestaat een meldplicht, voor andere is een laboratoriumsurveillance, kiemsurveillance of combinatie daarvan ingericht.

### Meldplicht

De meldplicht is als instrument opgenomen in de Wet publieke gezondheid om de verspreiding van bepaalde ernstige en/of uitbraakgevoelige infectieziekten te voorkomen. De meldplicht schrijft voor dat artsen en medisch-microbiologische laboratoria deze infectieziekten melden aan de Gemeentelijke Gezondheidsdienst (GGD). De GGD spoort de bron van de infectie op en gaat na of contacten van de patiënt risico lopen op een besmetting. Daarna kan de GGD maatregelen nemen ter bescherming van contacten en ter preventie van verspreiding van de ziekte. In het geval van voedselgerelateerde uitbraken wordt vaak intensief samengewerkt met de Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit (NVWA). Wat betreft de voedselgerelateerde infecties is er een meldplicht voor shigatoxineproducerende *E. coli* (STEC), *Listeria* en hepatitis A. Daarnaast is er een meldplicht voor voedselgerelateerde uitbraken waarbij meer dan twee personen betrokken zijn door een aannemelijk

epidemiologisch verband met eenzelfde voedselbron. De criteria voor het verplicht melden van voedseloverdraagbare en andere enterale ziekteverwekkers zijn te vinden op <https://lci.rivm.nl/meldingsplichtige-ziekten>.

### Laboratoriumsurveillance

Voor een aantal pathogenen zonder meldplicht wordt surveillance uitgevoerd door informatie te verzamelen vanuit het netwerk van medisch-microbiologische laboratoria (MML's). De laboratoriumsurveillance voor virale infecties (zoals norovirus en hepatitis E) bestaat uit het monitoren van trends in de virologische weekstaten ([www.rivm.nl/virologische-weekstaten](http://www.rivm.nl/virologische-weekstaten)). Wat betreft bacteriële ziekteverwekkers wordt er laboratoriumsurveillance uitgevoerd voor *Campylobacter* via de landelijke surveillance-databank voor antibioticumresistentie ISIS-AR, waarbij aantallen positieven, beperkte epidemiologische gegevens en antibioticumresistentiedata van *Campylobacter* verzameld worden.

### Kiemsurveillance

Voor een tijdige en adequate bestrijding van voedselinfecties is het noodzakelijk om zicht te hebben op circulerende pathogentypen. Kiemsurveillance (= fenotypische en/of genotypische detailkarakterisering van het pathogeen volgend op de primaire diagnostiek) speelt hierbij een belangrijke rol. Dit maakt het ook mogelijk om clusters en uitbraken te detecteren. Voor hepatitis A (<https://www.rivm.nl/en/havnet>), hepatitis E (<https://www.rivm.nl/en/hevnet>) en norovirus (<https://www.rivm.nl/en/noronet>) wordt genotypische informatie gegenereerd en verzameld via de zogeheten moleculaire platforms. Dit geldt ook voor niet-humane monsters om inzicht te krijgen in potentiële bronnen en transmissieroutes. Voor de meldingsplichtige ziekteverwekker STEC vindt een kiemsurveillance plaats waarbij MML's op vrijwillige basis isolaten naar het RIVM kunnen sturen, waar deze bevestigd en getypeerd worden. Voor *Listeria*, ook meldingsplichtig, vindt kiemsurveillance plaats in samenwerking met het Nationaal Referentielaboratorium voor Bacteriële Meningitis (NRLBM) bij het Amsterdam UMC. Isolaten worden door het NRLBM naar het RIVM gestuurd voor verdere typering ten behoeve van nationale surveillance. Voor *Salmonella* (geen meldingsplicht) bestaat een landelijke kiemsurveillance waarbij, net zoals bij STEC, isolaten door medisch-micro-

biologische laboratoria op vrijwillige basis naar het RIVM kunnen worden gestuurd, waar deze bevestigd en getypeerd worden. Voor *Campylobacter* is in 2021 begonnen met een landelijke kiemsurveillance waarbij zeven grotere MML's isolaten naar het RIVM sturen voor verdere typering ten behoeve van landelijke clusterdetectie.

## Monitoring voedselketen

Het wettelijke stelsel van voedselveiligheid in Nederland heeft een sterke basis in de Europese en nationale regelgeving. Uitgangspunt van het stelsel is dat de verantwoordelijkheid voor veilig voedsel bij het bedrijfsleven ligt. Dit is wettelijk vastgesteld in de zogeheten Algemene Levensmiddelen Verordening (ALV), die de basis vormt voor het stelsel van de voedselveiligheidsvoorschriften in de Europese Unie (EU). De NVWA ziet erop toe dat bedrijven in de voedselketen zich houden aan de wettelijke vereisten voor productie, transport en handel van veilig voedsel. De hele voedselketen van zowel de plantaardige als dierlijke voedselproductie valt onder dit toezicht.

De ALV (EG nr. 178/2002) maakt het mogelijk schadelijke producten van de markt te weren, en een specifieke verordening (EG nr. 2073/2005) inzake microbiologische criteria geeft aan welke specifieke criteria voedsel minimaal moet voldoen. Voor STEC geldt het criterium van afwezigheid van de serotypen O157, O104:H4, O26, O111, O103, en O145 in kiemgroenten. Dit is naar aanleiding van de grote uitbraak van STEC O104:H4 in Duitsland in 2011 [5]. De monitoring en bestrijding van *Salmonella* begint al in de primaire keten en is op Europees niveau gereguleerd in Verordening (EG) nr. 2160/2003 en de daarop gebaseerde uitvoeringsverordeningen (EG) nr. 200/2010 en (EG) nr. 517/2011. Deze verordeningen bevatten een monitorings- en meldplicht voor verschillende delen van de pluimveeketen (legkoppels, vleeskuikens en vermeerderingskoppels).

Voor voedsel gelden verschillende veiligheidsregels. In gehakt vlees en bereid vlees van pluimvee en andere diersoorten mag geen enkel *Salmonella*-serotype worden aangetroffen. Dat geldt ook voor andere typen levensmiddelen dan vlees waarbij de verwachting is dat ze zonder afdoende verhitting kunnen worden geconsumeerd (groenten, verse kruiden, zuivel, et cetera). Op rauw naturel pluimveevlees mag geen *S. enteritidis* en *S. typhi-murium* aanwezig zijn. Voor alle andere typen rauw vlees (waarbij de verwachting is dat

ze met afdoende verhitting worden geconsumeerd) geldt geen eis voor niet aantoonbaar zijn van *Salmonella*. Voor *Listeria* geldt een drempelwaarde-criterium, waarbij in kant-en-klare levensmiddelen die als voedingsbodem voor *L. monocytogenes* kunnen dienen (met uitzondering van zuigelingenvoeding en voeding voor medisch gebruik, waarin *Listeria* helemaal niet aanwezig mag zijn) *L. monocytogenes* aanwezig mag zijn onder 100 kolonievormende eenheden per gram voor de duur van de houdbaarheidstermijn. Producenten moeten kunnen aantonen ('challenge'-testen) dat *Listeria* gedurende de houdbaarheidstermijn niet kan uitgroeien tot boven de grenswaarde.

## Whole-genome sequencing

Sinds de opkomst van whole-genome sequencing (WGS)-technieken in 2016, waarbij vrijwel het hele genoom van een bacterie in kaart kan worden gebracht, worden deze voor de surveillance van voedselinfecties steeds meer gebruikt.

Het grote voordeel van WGS is dat deze ons in staat stelt om met een universele en reproduceerbare methode diverse klassieke (moleculair-)microbiologische technieken te bundelen en zowel vaker als sneller individuele uitbraken te identificeren. In eerste instantie werd WGS vooral toegepast als verdiepende techniek bij onderzoek van epidemische verheffingen. Clusters die waren gevonden met MLVA (Multi Locus Variable-number of tandem repeats Analysis) werden verder bekeken met WGS, vanwege het hogere onderscheidend vermogen van WGS.

Doordat WGS goedkoper is, is dit sinds 2019 de primaire techniek voor typering en karakterisering van voedselinfecties en vervangt het zowel de klassieke moleculaire typeringen zoals PFGE (Pulsed Field Gel Electrophoresis) en MLVA, maar ook de serologische O- en H-typeringen.

Bij het RIVM bestaat de huidige workflow uit kweek, gevolgd door DNA-isolatie en sequensen op de Illumina NextSeq. De gehele WGS-workflow is gevalideerd volgens de ISO 15189-norm en sinds 2021 vindt alle typering en karakterisering plaats onder accreditatie. In 2021 zijn op deze manier ruim 3000 isolaten van bacteriële voedselinfecties geanalyseerd. Bij WFSR wordt vanaf 2017 WGS ingezet voor alle *L. monocytogenes* en STEC-isolaten. Het sequensen wordt hierbij onder ISO 17025-accreditatie uitbesteed, en de analyseworkflow is gevalideerd. Hiermee is ook

de klassieke serotypering en moleculaire typering op basis van PFGE voor deze voedselisolaten komen te vervallen.

### Clusterdetectie en uitbraakonderzoek

De belangrijkste functie van de landelijke surveillancestructuren is het vroegtijdig detecteren van regio-overschrijdende clusters van patiënten. Bij zeldzame pathogenen is de meldplicht een goed middel voor de detectie van (zelfs kleine) verheffingen (meer gevallen dan verwacht op basis van langjarige gemiddelden), maar bij meer algemeen voorkomende pathogenen vallen verheffingen minder snel op. Ook komt het voor dat er geen verheffing is in het aantal gevallen van een bepaald pathogeen maar dat er wel clusters zijn van patiënten met een gemeenschappelijke infectiebron (specifiek voedings-middel, locatie, et cetera). Dit wordt zichtbaar met de WGS-data van de kiemsurveillance: patiënten met een identiek isolaat hebben hoogstwaarschijnlijk eenzelfde bron van infectie.

Op het moment dat een cluster/uitbraak wordt gedetecteerd, neemt het RIVM voor elk geval contact op met de dienstdoende arts-microbioloog van het insturende-medisch-microbiologisch laboratorium. Vervolgens wordt de GGD gevraagd contact op te nemen met de behandelend arts en de patiënt om een voedselconsumptievragenlijst af te nemen voor een patiënt-controleonderzoek. Doel van dat onderzoek is consumptiepatronen te identificeren die significant vaker voorkomen bij patiënten dan bij controles (en dus een mogelijke bron van infectie zijn). Bij grotere, langdurigere uitbraken kan de vragenlijst ingekort worden en meer toegesneden zijn naar aanleiding van resultaten die eerder in de uitbraak bekend zijn geworden. Op het moment dat er een specifiek product en/of specifieke locatie uit het onderzoek naar voren is gekomen, verschuift het zwaartepunt van het uitbraakonderzoek naar de NVWA (die vanaf het begin van de uitbraak betrokken wordt). De NVWA neemt monsters in de voedselketen, die geanalyseerd worden door WFSR. Wanneer isolaten worden gevonden die identiek zijn aan de patiëntisolaten, is dit een sterke aanwijzing voor de bron. Op basis van aanvullend onderzoek (zoals hygiënestatus van het bedrijf, historie, et cetera) zal de NVWA passende maatregelen nemen. Deze kunnen variëren van hygiënemaatregelen en terugroepacties tot publiekswaarschuwingen en sluiting van bedrijven.

Voorbeelden van grootschalige uitbraakonderzoeken zijn de *Salmonella*-thompsonuitbraak in 2012 geassocieerd met gerookte zalm, waarbij meer dan duizend patiënten waren betrokken [6], een uitbraak met *Salmonella* bovismorbificans gerelateerd aan rauwehamproducten [7], en de uitbraak van *Salmonella enteritidis* geassocieerd met Poolse eieren, waarbij 18 verschillende Europese landen meer dan 800 gevallen rapporteerden [3].

Naast de respons op uitbraken heeft clusterdetectie op basis van WGS in sommige gevallen een preventieve functie. Een goed voorbeeld hiervan is het vervolgen van *Listeria*. Door WGS wordt voor de NVWA zichtbaar of specifieke *Listeria*-stammen persisteren in de productieomgeving. Daar kan een producent op gewezen worden, zodat die vervolgens verbeterde schoonmaakprocedures kan implementeren en erger (een uitbraak) kan voorkomen.

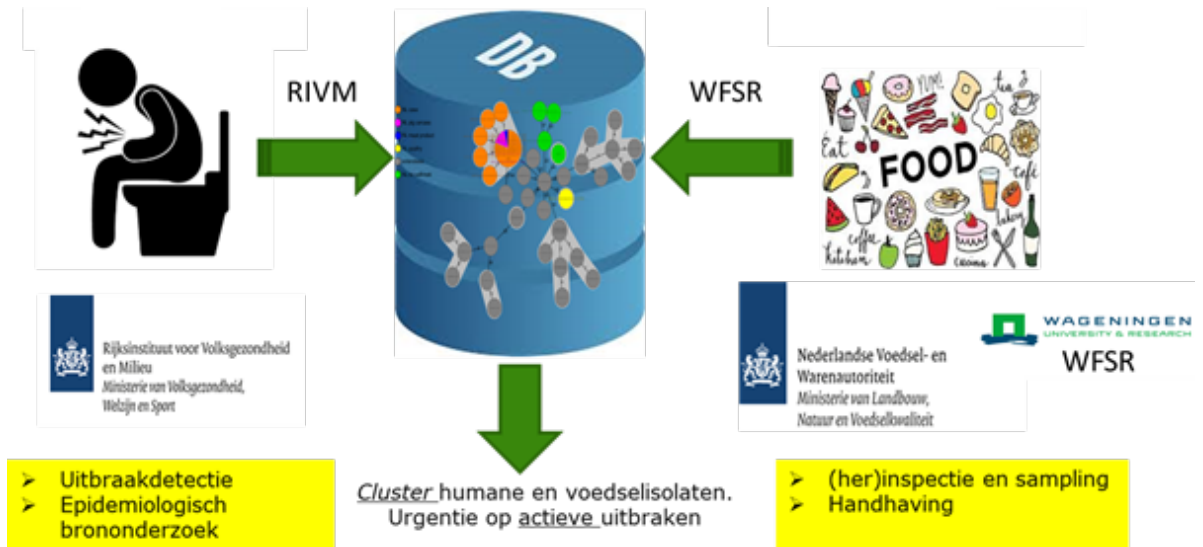
### Het delen van data

Een van de grote voordelen van WGS is dat deze techniek ondubbelzinnige data genereert die eenvoudig tussen laboratoria en landen gedeeld kunnen worden. Dit maakt dat genetische informatie van stammen bij potentiële uitbraken en bron- en contactonderzoek sneller gedeeld kan worden. Sinds 2017 werken RIVM, NVWA en WFSR met een gedeelde databank waarin WGS-data van isolaten afkomstig uit de humane surveillance en de monitoring in voedsel bij elkaar komen en gezamenlijk worden geanalyseerd op clusters (*figuur 1*). Een groot voordeel hiervan is dat wanneer sequenties van actieve humane clusters overeenkomen met sequenties van voedselisolaten, zeer snel actie kan worden ondernomen, in plaats van te wachten op de uitkomsten van een patiëntcontroleonderzoek. Een voorbeeld hiervan is de *Listeria*-uitbraak die plaatsvond van 2017 tot 2019 en gerelateerd was aan vleeswaren [4]. Daarnaast worden bij grensoverschrijdende uitbraken WGS-data uit de surveillance en monitoring ad hoc gedeeld met de European Centre for Disease Control (ECDC) en de European Food Safety Authority (EFSA).

### Toekomst

Nu de surveillance van voedselinfecties volledig wordt uitgevoerd op basis van WGS zijn er diverse mogelijkheden voor toekomstige toepassingen. Ten

Figuur 1. RIVM en NVWA delen WGS-data voor geïntegreerde surveillance van voedselinfecties.



eerste werken wij aan een nog uitgebreidere karakterisering van isolaten. Zo zal op korte termijn naast een genotypering ook een in silico-resistentieprofiel gegenereerd worden van elk isolaat. Met deze gegevens kunnen we niet alleen de circulatie van (geno)typen maar ook de trends van circulerende resistentiegenen vervolgen in onze surveillance. Een andere stap is het detecteren van eventuele virulentiekenmerken met WGS zodat we ook de diverse op PCR gebaseerde methoden kunnen vervangen door WGS. Een voorbeeld hiervan zijn de diverse virulentiegenen bij *E. coli* zoals de shigatoxinen.

Ten tweede werken we aan een verdere OneHealth-benadering van onze surveillance. Door het universele karakter van de WGS kunnen data van diverse bronnen (voedsel, dieren en humaan) eenvoudig gecombineerd worden in een gedeelde databank. Deze gecombineerde datasets bieden niet alleen voordelen voor surveillance en uitbraak-onderzoek (zoals hierboven beschreven) maar ook mogelijkheden voor onderzoek om beter inzicht te krijgen in de evolutie, ecologie, en het relatieve belang van reservoirs.

Ten slotte bieden de verbeterde toegankelijkheid van WGS en bijbehorende databases op termijn de mogelijkheid voor laboratoria om data te delen. Dit kan betekenen dat bijvoorbeeld MML's die aan de surveillance deelnemen of levensmiddelenproducenten die zelf sequensen data kunnen binnenhalen of dat WGS-data van ingestuurde isolaten teruggestuurd worden naar het inzendende laboratorium voor eigen toepassingen.

Naast deze mogelijkheden zien wij ook een aantal uitdagingen voor het goed kunnen uitvoeren van de nationale surveillance op basis van WGS. Door de ontwikkelingen in de moleculaire diagnostiek neemt het aantal laboratoria dat zelf kweken uitvoert van voedselgerelateerde pathogenen snel af. Zonder isolaten is er geen WGS op patiëntniveau mogelijk en daarmee komt de uitvoer van een goede nationale surveillance en uitbraakdetectie onder druk te staan. Dit is met name actueel bij shigatoxineproducerende *E. coli* (STEC), waarbij een sterke afname in het uitvoeren van kweken wordt geconstateerd [8]. Momenteel wordt de dekkingsgraad (het deel van de



laboratoriumbevestigde gevallen dat in de kiem-surveillance wordt opgenomen) van de STEC-kiemsurveillance geschat op 27 procent, terwijl dat voor *Listeria* en *Salmonella* respectievelijk 84 en 64 procent is. Dat de dekkinggraad geen 100 procent is, komt ook doordat laboratoria isolaten vrijwillig mogen insturen.

Een andere uitdaging is dat de zich uitbreidende wetgeving rondom persoonsbescherming het steeds moeilijker maakt om basale epidemiologische gegevens te delen, hetgeen bron- en contact-onderzoek bemoeilijkt. Het volledig anonimiseren van data is daarbij geen oplossing omdat er bij een uitbraak uiteindelijk gekoppeld moet worden aan een patiënt om een patiënt-controleonderzoek te kunnen uitvoeren. Daarnaast is het van belang om trends in epidemiologische karakteristieken (zoals leeftijdsverdelingen, symptomatiek en geografische informatie op bijvoorbeeld gemeenteniveau) te monitoren.

De conclusie is dat whole-genome sequencing een grote meerwaarde blijkt te hebben voor nationale surveillance en uitbraakonderzoek van voedselinfecties. WGS biedt ons de mogelijkheid om onder de hoogste kwaliteitsstandaarden te werken. De WGS-data zijn snel en ondubbelzinnig beschikbaar waardoor het snel schakelen tussen instanties verbetert en uitbraken eerder worden opgemerkt. Daarnaast biedt WGS de mogelijkheid om niet alleen naar clusterdetectie maar ook naar andere karakteristieken van de stam te kijken zoals resistentie, waardoor men tijdig kan acteren op eventuele ontwikkelingen in deze

aandachtsgebieden. Kortom, WGS voor voedselinfecties voelt als 'knockin' on heaven's door'.

## Referenties

1. Lagerweij GR, Pijnackjer R, Friesema IHM, Mughini Gras L, Franz E. Disease burden of food-related pathogens in the Netherlands. RIVM rapport 2020-0117.
2. Suijkerbuijk AWM, Bouwknegt M, Mangen MJJ, et al. The economic burden of a *Salmonella* Thompson outbreak caused by smoked salmon in the Netherlands, 2012-2013. *Eur J Publ Health*. 2017;27:325-30.
3. Pijnacker R, Dallman TJ, Tijsma ASL, et al. An international outbreak of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis linked to eggs from Poland: a microbiological and epidemiological study. *The Lancet Infectious Diseases*. 2019;19:778-86.
4. Friesema IHM, Wullings BA, van der Voort, M, et al. Surveillance van *Listeria monocytogenes* in Nederland. *Infectieziektebulletin* 2020;31(3).
5. Kuijper EJ, Timen A, Franz E, et al. Outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and haemolytic uraemic syndrome. *Ned Tijdschr Geneesk*. 2011;155(35).
6. Friesema I, de Jong A, Hoffhuis A, et al. Large outbreak of *Salmonella* Thompson related to smoked salmon in the Netherlands, August to December 2012. *Eurosurveillance* 2014;19(39).
7. Brandwagt D, van den Wijngaard C, Tulen AD, et al. Outbreak of *Salmonella* Bovismorbificans associated with the consumption of uncooked ham products, the Netherlands, 2016 to 2017. *Eurosurveillance* 2018;23(1).
8. Friesema IHM, Kuiling S, Igloi Z, Franz E. Optimization of notification criteria for Shiga toxin-producing *Escherichia coli* surveillance, the Netherlands. *Emerging Infectious Diseases*. 2021;27:258-61.

### **Een voorbeeld van een uitbraak: *Salmonella enteritidis* gerelateerd aan eieren**

*In augustus 2019 werd door de GGD melding gedaan van een *Salmonella*-enteritidisuitbraak met 22 zieken gerelateerd aan een familiefeest. Bronopsporing van de RIVM/NVWA/WFSR en een vergelijking van stammen uit patiënten en eieren met WGS toonde aan dat eieren uit Spanje, verwerkt in tiramisu, de bron waren van de uitbraak. De eieren werden van de markt gehaald. Op basis van WGS bleek het cluster groter dan aanvankelijk gedacht en zich niet te beperken tot het familiefeest. Hoewel maatregelen door de NVWA in eerste instantie leken te werken, nam het aantal gerelateerde patiënten in 2020 weer toe. Momenteel zijn er in Nederland buiten de zieken op het familiefeest, in totaal 63 patiënten die behoren tot het cluster op basis van WGS, waarvan drie in 2018, 30 in 2019, 17 in 2020 en 13 in 2021. Ook werd duidelijk dat meerdere Europese landen *Salmonella*-enteritidispatiënten hadden die gerelateerd waren aan hetzelfde cluster, met in totaal 1067 patiënten tot en met 2021, waarvan 271 gemeld in 2021. De bevestiging van de bron en met name de identificatie van de patiënten buiten het initiële cluster was zonder WGS onmogelijk geweest.*