

Verbeterde opsporing van voedseluitbraken

Eelco Franz, Ingrid Friesema, Roan Pijnacker, Oda van den Berg, Maaïke van den Beld, Maren Lanzl, Greetje Castelijm, Coen van der Weijden

Samenvatting

Regelmatig vinden er in Nederland regio-overstijgende voedselgerelateerde uitbraken van infectieziekten plaats. Deze kunnen steeds beter gedetecteerd en onderzocht worden dankzij de inzet van *whole genome sequencing* (WGS), het nationaal en internationaal delen van data, en de investering in goede samenwerking tussen de verschillende betrokken instanties. Dit artikel beschrijft hoe uitbraakonderzoek in Nederland wordt gedaan aan de hand van drie geselecteerde uitbraken. Uitdagingen voor de landelijke surveillance zijn het verkrijgen van voldoende isolaten in een tijd van verdere verschuiving naar enkel moleculaire diagnostiek. Daarnaast maakt de wetgeving rondom persoonsbescherming het lastig om basale epidemiologische gegevens te delen, wat bron- en contactonderzoek bemoeilijkt.

Abstract

Food-related outbreaks of infectious diseases regularly occur in the Netherlands. These can more often be detected and investigated due to the use of whole genome sequencing (WGS), national and international data sharing, and the investment in good cross-sectoral collaboration. This article describes how outbreak research is performed in the Netherlands based on three selected outbreaks. Challenges for national surveillance include obtaining sufficient isolates in the background of an increasing shift towards the use of molecular diagnostics alone. In addition, privacy legislation makes it difficult to share basic epidemiological data, which complicates source investigations.

Inleiding

Voedseloverdraagbare infecties

Een verscheidenheid aan ziekteverwekkers kan via

voedsel(bereiding) de mens besmetten. Dit kunnen bacteriële, parasitaire en virale ziekteverwekkers zijn. Meestal leiden deze tot maag-darmklachten zoals overgeven, buikpijn, en/of (bloederige) diarree. In sommige gevallen leiden deze infecties tot ernstige symptomen zoals hepatitis, sepsis, meningitis of encefalitis. Het bepalen van de totale ziektelast geassocieerd met voedselgerelateerde infecties is lastig omdat slechts een beperkt deel van de zieken naar de huisarts gaat of melding maakt bij de Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit (NVWA). Daarnaast blijft door onderdiagnostiek en onder-rapportage het grootste deel van de infecties onopgemerkt. Naar schatting werden in Nederland in de periode 2019-2021 tussen de 553.000 en 647.000 personen ziek door besmet voedsel, met een geschatte ziektelast van 3.600-4.200 Disability Adjusted Life Years (DALY's) per jaar [1].

Een deel van de infecties die via voedsel mensen infecteren is afkomstig van (landbouwhuis)dieren en/of voedselproducten daarvan, zogeheten 'alimentaire zoönosen'. Voorbeelden hiervan zijn *Salmonella*, *Campylobacter*, shigatoxineproducerende *Escherichia coli* (STEC) en hepatitis E, die hun belangrijkste reservoirs hebben in pluimvee, varkens en runderen. Bij andere verwekkers is de mens de enige gastheer, zoals norovirus, hepatitis A en *Shigella*. Tot slot kunnen pathogenen zoals *Listeria monocytogenes* vanuit

RIVM, Centrum Infectieziektebestrijding (CIb), Bilthoven, dr. E. Franz, afdelingshoofd Epidemiologie, dr. I. Friesema, epidemioloog, dr. R. Pijnacker, epidemioloog, dr. O. van den Berg, epidemioloog, dr. M. van den Beld, afdelingshoofd Diagnostiek, dr. M. Lanzl, microbioloog, Wageningen Food Safety Research (WFSR), Wageningen, dr. G. Castelijm, microbioloog, Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit (NVWA), Utrecht, C. van der Weijden, senior inspecteur.
Correspondentieadres: E. Franz (eelco.franz@rivm.nl).

de voedselproductieomgeving of het milieu voedselproducten besmetten. Belangrijke oorzaken van infectie/ziekte via voedsel zijn kruiscontaminatie bij slacht, verwerking of bereiding, te hoge bewaartemperaturen, te beperkte verhitting en onvoldoende persoonlijke hygiëne van voedselverwerkers of -bereiders. Daarnaast importeert Nederland veel voedsel, zowel uit de Europese Unie als daarbuiten, wat een risico kan zijn op voedselinfecties, onder andere vanwege soms lagere hygiënestandaarden en de onmogelijkheid alles te controleren.

Humane surveillance en uitbraakdetectie

Landelijke surveillance op pathogeenniveau vormt de basis van vroegtijdige signalering van bovenregionale verheffingen en uitbraken. Dit wordt in samenwerking met de GGD-en en medisch-microbiologische laboratoria (MML's) uitgevoerd door het Centrum Infectieziektebestrijding van het Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM). Voor een aantal specifieke ziekteverwekkers die vaak gerelateerd zijn aan voedsel bestaat een meldplicht (bijvoorbeeld STEC, *Listeria* en hepatitis A), waarbij artsen en MML's deze infectieziekten melden aan de GGD. Gegevens worden centraal verzameld in het OSIRIS-systeem van het RIVM. Er is ook een pathogeenonafhankelijke meldplicht voor voedselinfecties vastgesteld bij twee of meer patiënten met sterke verdenking op een gemeenschappelijke voedselbron. Naast de meldplicht is er voor een groter aantal pathogenen een kiemsurveillance waarbij MML's op vrijwillige basis isolaten naar het RIVM sturen waar deze bevestigd en getypeerd worden ten behoeve van landelijke uitbraakdetectie. Voorbeelden hiervan zijn *Salmonella*, *Campylobacter*, *Listeria*, STEC, *Yersinia*, *Shigella* en hepatitis A. Alle isolaten die door het RIVM worden ontvangen worden getypeerd met whole genome sequencing (WGS). De gehele WGS-workflow is gevalideerd volgens de ISO15189-norm en sinds 2021 vindt alle typering en karakterisering plaats onder accreditatie. Clusteranalyse vindt plaats bij het RIVM op basis van *core-genome multi-locus sequence typing* (cg-MLST). De doorlooptijd van het WGS-proces (ontvangst isolaat tot databeschikbaarheid voor surveillance) bedraagt 8 tot 10 dagen.

Uitbraakonderzoek

Patiënten met een (nagenoeg) identiek isolaat op basis

van WGS-analyse hebben hoogstwaarschijnlijk eenzelfde bron van infectie. Op het moment dat een cluster of uitbraak wordt gedetecteerd, wordt bekeken of een uitbraakonderzoek gestart dient te worden op basis van onder andere de grootte van de uitbraak en het aantal recente ziektegevallen. Als een onderzoek gestart wordt, neemt het RIVM contact op met de GGD en wordt gevraagd contact op te nemen met de behandelend arts en de patiënt om een voedselconsumptievragenlijst af te nemen. Doel van dat onderzoek is om gemeenschappelijke consumptiepatronen te identificeren die mogelijk de bron van infectie zijn. Wanneer er uit de eerste vragenlijsten geen duidelijke bron naar voren komt, kan een patiëntcontrole-onderzoek gestart worden, waarbij ook voedselvragenlijsten afgenomen worden bij controles die willekeurig geselecteerd worden uit de gemeentelijke basisadministratie. Op het moment dat er een specifiek product en/of locatie uit dit epidemiologisch uitbraakonderzoek naar voren komt, kan de NVWA starten met tracering en onderzoek in de voedselketen. Dit omvat vaak het nemen van monsters van verdachte producten met als doel de aan-/afwezigheid van de uitbraakstam (met behulp van WGS) aan te tonen. Deze monsters worden geanalyseerd door Wageningen Food Safety Research (WFSR). Bij bevestiging van de bron neemt de NVWA maatregelen, die kunnen variëren van hygiënemaatregelen tot terugroepacties en het stoppen van voedselproductie.

Sinds 2017 werken het RIVM, de NVWA en WFSR met een gedeelde databank waarin WGS-data van isolaten afkomstig uit de humane surveillance en de monitoring van de voedselketen bij elkaar komen en (gezamenlijk) worden geanalyseerd op clusters. Hierbij worden alleen de ruwe WGS-data gedeeld zonder informatie over specifieke patiënten en bedrijven. Dit delen van data heeft als voordeel dat wanneer sequenties van isolaten van actieve humane clusters overeenkomen met sequenties van isolaten uit de voedselketen, snel actie kan worden ondernomen, in plaats van te wachten op de uitkomsten van een patiëntcontroleonderzoek. Bij (mogelijk) grensoverschrijdende uitbraken worden WGS-data uit de surveillance en monitoring ad hoc gedeeld met andere landen, meestal via de European Centre for Disease Control (ECDC) en de European Food Safety Authority (EFSA).

Hierna worden drie uitbraakonderzoeken beschreven

met verschillende karakteristieken:

1. Een aantal clusters van *Listeria monocytogenes* die direct konden worden gelinkt aan een bron door het delen van WGS-data tussen het RIVM en WFSR/NVWA;
2. Een regionale uitbraak van monofasische *Salmonella* Typhimurium, waarbij met behulp van vragenlijstonderzoek een associatie met droge worst werd aangetoond;
3. Een internationale uitbraak van *Salmonella* Braenderup gerelateerd aan geïmporteerde meloenen uit Honduras, die intensieve internationale samenwerking vereiste.

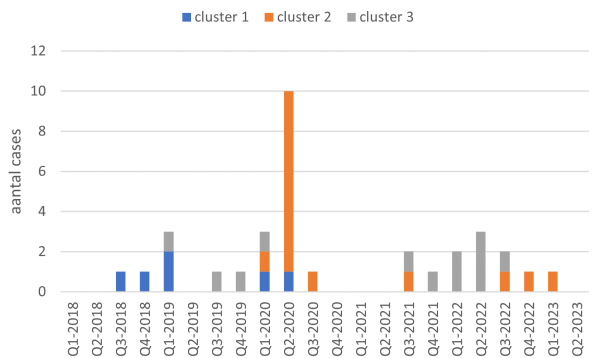
Meerdere listerioseclusters gerelateerd aan visproducten

De epidemiologie van *Listeria*-infecties kenmerkt zich door de aanwezigheid van relatief veel maar kleine clusters met vaak ernstig zieke patiënten. Dit verhinderde in het verleden effectieve epidemiologische bronopsporing. Sinds 2019 worden sequenties van alle humane en voedselisolaten actief gedeeld tussen het RIVM en WFSR/NVWA. Bij clusters van minimaal drie patiënten en minimaal één identiek voedselisolaat wordt de NVWA op de hoogte gebracht en onderzoek gestart. WFSR/NVWA deelt met het RIVM het type product (bijvoorbeeld gerookte vis, zachte kaas) waaruit het voedselisolaat afkomstig was. Vervolgens tracht het RIVM te achterhalen of de patiënten het betreffende type product hadden gegeten. Beperkte informatie hierover is meestal meegeleverd met de melding volgens de meldplicht. Als meer informatie nodig is, bijvoorbeeld aankooplocaties, wordt contact opgenomen met de GGD, die eventueel opnieuw contact kan opnemen met de patiënt. Dit laatste is niet altijd mogelijk, bijvoorbeeld als er al te veel tijd sinds het ziek worden is verstreken of als de patiënt te ziek of overleden is. Tegelijkertijd neemt de NVWA contact op met het bedrijf waarvan het besmette product afkomstig was. Daarbij wordt besproken of er hygiënegerelateerde problemen spelen waar het bedrijf al acties voor ondernomen had. Verder wordt er een inspectie uitgevoerd om na te gaan hoe ziekteverwekkers worden beheerst tijdens productie, en waar mogelijk worden nieuwe omgevingsmonsters binnen de productielocatie genomen.

Op deze manier zijn de afgelopen paar jaar diverse *Listeria*-clusters succesvol getraceerd naar een bron,

waaronder drie clusters gerelateerd aan visproducten die konden worden herleid naar de productielocaties. Op alle drie de productielocaties testten de omgevingsmonsters positief voor *L. monocytogenes* en viel het gevonden isolaat binnen het betreffende WGS-cluster. Tevens werden aannemelijke routes van besmetting geïdentificeerd. Bij een van de bedrijven was er, naast het nemen van maatregelen om de bron of route van besmetting onder controle te krijgen, ook aanleiding voor het terugroepen van de gerookte vis.

Figuur 1. Aantal gevallen per kwartaal per cluster gerelateerd aan gerookte vis, januari 2018 - juni 2023



Zowel in deze drie clusters (figuur 1) als in andere *Listeria*-clusters gerelateerd aan productielocaties valt op dat er gedurende diverse jaren zieken gezien worden. Daarbij zijn er periodes waarbij er minimaal één patiënt per kwartaal is, afgewisseld met periodes zonder patiënten oplopend tot twee jaar. Deze periodes zonder zieken waren vooral zichtbaar nadat er hygiënecorrigerende maatregelen op de locatie waren genomen. Dit lijkt erop te wijzen dat *Listeria* vaak in de productielocatie aanwezig blijft, waarbij het wel mogelijk is om *Listeria* onder controle te houden maar lastig is om deze te elimineren. De uitbraakstam van een van de bovenbeschreven productielocaties is sinds het derde kwartaal van 2020 niet meer bij patiënten gezien (totaal zes patiënten), terwijl de stam in de daaropvolgende jaren nog wel in niet-humane monsters gevonden werd, maar in concentraties die wettelijk toegestaan zijn (lager dan 100 kve/g). De clusters van de andere twee productielocaties betreffen respectievelijk 12 en 14 patiënten verspreid over drie tot vier jaar met recent incidentele patiënten. Daarop volgt een controle of de beheersing nog vol-

doende is. Bij een incidentele patiënt kan niet uitgesloten worden dat het product te warm bewaard is geweest of geconsumeerd na de TGT ('Te Gebruiken Tot')-datum.

Regionale uitbraak van *Salmonella* Typhimurium met regionale droge worst

In de landelijke kiemsurveillance voor *Salmonella* werd op basis van WGS een cluster gedetecteerd van patiënten (n = 14) met *Salmonella enterica* serotype Typhimurium-infecties. Het cluster betrof diverse GGD-regio's in het noordoosten van Nederland en de infecties speelden in de periode februari tot juni 2023. De GGD-en hebben voedingsvragenlijsten afgenomen bij de patiënten, waaruit een specifieke regionale droge worst naar voren kwam als mogelijke bron. Om dit nader te onderzoeken heeft de NVWA van de producent een *Salmonella*-isolaat verkregen afkomstig uit eigen routinecontrole, die WFSR met WGS heeft geanalyseerd. Door de WGS-data van dit isolaat te vergelijken met die van de humane gevallen, kon worden vastgesteld dat het om dezelfde stam ging. De consumptiegegevens van de patiënten in combinatie met de microbiologische bevindingen maakten het zeer waarschijnlijk dat deze droge worst de bron van de uitbraak was. Omdat droge worst veel vaker werd geconsumeerd door patiënten in deze uitbraak in vergelijking met patiënten uit vorige uitbraken (case-caseanalyse), maar ook omdat microbiologische bevestiging van het voedselproduct snel beschikbaar was, werd een patiëntcontroleonderzoek niet nodig geacht.

De NVWA heeft onderzocht of het om een of meer partijen droge worst ging, onder andere door te kijken of er patiënten ziek zijn geworden nadat de houdbaarheidsdatum van de betreffende partij was verstreken. Dit en aanvullend onderzoek van de producent liet zien dat waarschijnlijk sprake was van een incidenteel hoge besmetting van een grondstofpartij. De desbetreffende partij droge worst was bij het duidelijk worden van de bron al over de houdbaarheidsdatum. Dat het om een incidentele besmetting ging bleek ook uit het feit dat er zich geen nieuwe patiënten meldden. Naast het identificeren van de bron van de uitbraak was er aandacht voor mogelijke oorzaken. Een factor die een rol heeft gespeeld, was de rijpingstijd tijdens de productie van de gedroogde worsten. Samen met het zoutgehalte, de pH-waarde en de wateractiviteit heeft de

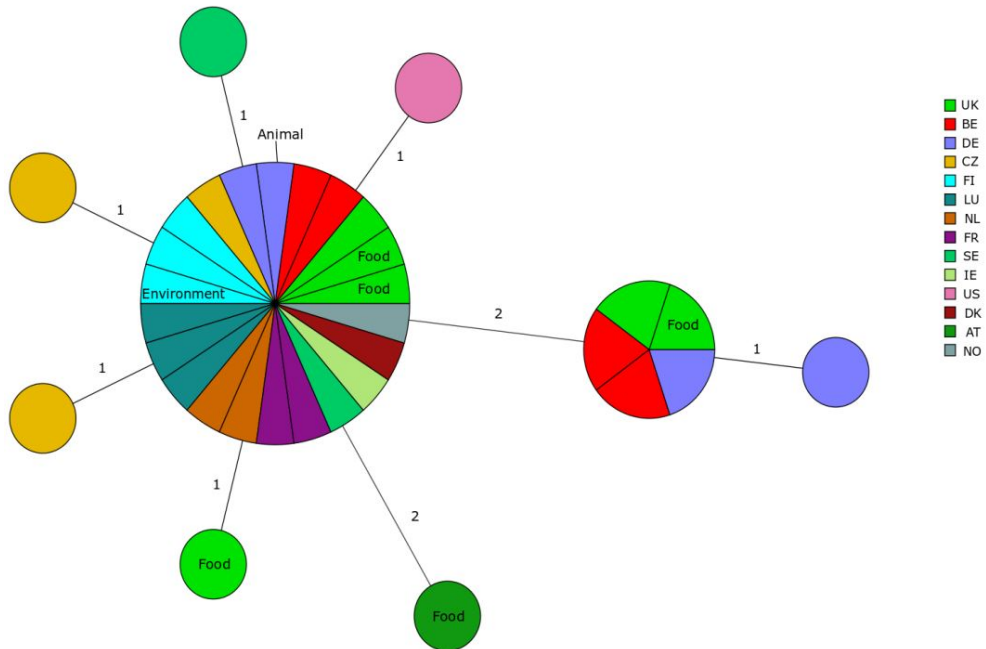
rijpingsduur invloed op de microbiële controle en de overleving van pathogenen zoals *Salmonella* in droge worst [2]. Uit rapporten van de producent bleek dat de rijpingstijd niet lang genoeg was om *Salmonella* volledig te elimineren wanneer de grondstof hoog besmet is. Deze uitbraak illustreert dat resultaten van het uitbraakonderzoek ook input kunnen zijn voor producenten om besmettingen te voorkomen.

Internationale uitbraak *Salmonella* Braenderup gerelateerd aan meloenen uit Honduras

In mei 2021 meldde Denemarken een cluster van patiënten met een *Salmonella* Braenderup-infectie via het ECDC Epidemic Intelligence Information System. Tegelijkertijd werd in Nederland ook een verheffing van 10 gevallen binnen twee weken zichtbaar van dit serotype in de kiemsurveillance, ten opzichte van het gebruikelijke 7 tot 10 keer in een geheel jaar. Dit cluster groeide in de weken erna naar 34 gevallen. WGS-gegevens lieten zien dat ze met twee of meer genen verschil (op basis van cg-MLST) samenvielen met de Deense uitbraakstam. Het ECDC faciliteerde internationaal uitbraakonderzoek waarbij data uit voedselvragenlijsten van verschillende landen centraal werden verzameld en geanalyseerd. Uiteindelijk werden tussen 15 maart en 6 juli 2021 in totaal 348 bevestigde gevallen van *S. Braenderup*-sequentietype 22 (ST22) gemeld, verspreid over 12 EU landen en het Verenigd Koninkrijk. Slechts twee gevallen maakten melding van reizen. In totaal werden 68 gevallen in het ziekenhuis opgenomen, er werden geen sterfgevallen gemeld.

Uit de patiëntinterviews van verschillende landen inclusief Nederland en patiëntcontroleonderzoek van het Verenigd Koninkrijk kwamen kleine meloenen naar voren (met name galiameloenen) als mogelijke besmettingsbron. In juni werd door de voedselautoriteit in het Verenigd Koninkrijk *S. Braenderup* aangetoond op galiameloenen afkomstig uit Honduras [3]. Met WGS werd bevestigd dat het ging om de uitbraakstam. Op basis van het epidemiologische onderzoek, microbiologische bevindingen en tracering kon geconcludeerd worden dat galiameloenen geïmporteerd uit Honduras de bron waren voor deze internationale uitbraak. De NVWA heeft toegezien op het verwijderen van meloenen van de Nederlandse markt. De meloenen zijn hoogstwaarschijnlijk besmet geraakt in een wastank bij een van de installatie in

Figuur 2. Minimum spanning tree (cgMLST, Enterobase-schema) inclusief landrepresentatieve uitbraaksequenties van 27 humane *S. Braenderup*-ST22-isolaten uit 14 landen, EU/EER, het VK en de VS (2021), vijf voedselisolaten verzameld in het VK en Oostenrijk, één milieu-isolaat verzameld in Finland en één dierisolaat verzameld in Duitsland in 2021.



Honduras waar de meloenen werden verpakt. In dit water werd de uitbraakstam ook aangetoond. *S. Braenderup* is een serotype dat in verschillende dieren een reservoir kan hebben, inclusief pluimvee, runderen en varkens. Eerdere uitbraken met dit serotype werden gerelateerd aan mango's, tomaten, ijsbergsla, en eieren [4]. Deze uitbraak laat duidelijk zien dat men scherp moet blijven op ongebruikelijke bronnen en dat in dat geval internationale samenwerking in de bronopsporing zeer belangrijk is.

Discussie

Voedselgerelateerde uitbraken vormen slechts een deel van de totale ziektelast door pathogenen zoals *Listeria* en *Salmonella*. In tegenstelling tot sporadische gevallen geven uitbraken de mogelijkheid om bronnen te identificeren en maatregelen te treffen om meer ziekten te voorkomen. Daarbij moet worden bedacht dat het werkelijke aantal zieken bij een uitbraak vaak een factor 20 tot 25 hoger ligt dan het aantal gemelde

gevallen. De beschreven uitbraken laten het belang zien van WGS-typering van de isolaten. De hoge resolutie van deze typering stelt ons beter in staat om clusters van patiënten en uitbraken te identificeren, waarbij een clusterend voedselisolaat een sterke aanwijzing is voor de bronlocatie. De uitwisseling van sequentiedata tussen het RIVM en WFSR versnelt de bronopsporing, inclusief de mogelijkheid voor de NVWA om gericht additionele monsternamen en inspecties uit te voeren. Dit verhoogt de kans dat een mogelijk besmet product nog van de markt gehaald kan worden en mogelijk ziekten voorkomen kunnen worden. Ook het internationaal (vertrouwelijk en niet tot patiënten herleidbaar) delen van WGS-data van uitbraken met ECDC is cruciaal in het gezamenlijke brononderzoek [5]. De WGS-data bieden ook de mogelijkheid van snelle risicokarakterisering van de stammen doordat virulentie- en antibioticum-resistentieprofielen snel en gestandaardiseerd in silico kunnen worden verkregen.

Er zijn echter ook uitdagingen. Het blijft van groot belang om epidemiologisch uitbraakonderzoek te verrichten. Daarmee kan men allereerst richting geven aan de bronopsporing wanneer er nog geen voedselisolaat clustert met de zieken. Daarnaast maakt uitbraakonderzoek het mogelijk om in de aanwezigheid van microbiologisch bewijs van een bron de blootstelling van de patiënten aan deze bron te verifiëren. Een andere uitdaging is dat WGS-gebaseerde surveillance alleen mogelijk is als isolaten worden verkregen van zowel patiënten als uit voedsel, dieren, productieomgeving en/of milieu. De trend naar meer (en uitsluitend) moleculaire diagnostiek in medische laboratoria, waardoor dus geen isolaten worden verkregen en/of worden ingestuurd voor de benodigde WGS-analyse, is daardoor een bedreiging voor het uitvoeren van adequate landelijke en internationale surveillance voor uitbraakdetectie. Daarnaast maakt wetgeving rondom persoons-bescherming het moeilijk om basale epidemiologische gegevens te delen, hetgeen bron- en contactonderzoek bemoeilijkt. Pseudonimiseren is mogelijk, maar bij het volledig anonimiseren van data is uitbraakonderzoek niet mogelijk omdat gegevens uit diagnostiek niet meer gekoppeld kunnen worden aan uitkomsten van epidemiologische gegevens, zoals vragenlijstonderzoek.

Conclusie

In tegenstelling tot sporadische ziektegevallen geven uitbraken de mogelijkheid om bronnen te identificeren en maatregelen te treffen om ziekte te voorkomen. Voor de detectie van uitbraken is de rol van MML's voor het insturen van isolaten van zeer grote waarde. Het

succes waarmee uitbraken worden gedetecteerd en bronnen worden geïdentificeerd valt of staat met goede samenwerking tussen nationale en internationale ketenpartners. In de bronopsporing wordt intensief samengewerkt tussen het RIVM, GGD-en, de NVWA, WFSR, MML's, EFSA en ECDC. Het is daarom van belang te blijven investeren in goede samenwerkingen, waardoor uitbraakdetectie en bronopsporing efficiënt en effectief kan worden uitgevoerd.

Referenties

1. Benincà, Pijnacker, Friesema, Kretzschmar, Franz, Mughini-Gras. 2022. Disease burden of food-related pathogens in the Netherlands, 2021. RIVM rapport 2022-0173.
2. Patarata, Fernandes, Silva, Fraqueza. The Risk of Salt Reduction in Dry-Cured Sausage Assessed by the Influence on Water Activity and the Survival of Salmonella. *Foods*. 2022;11:444.
3. Chan, Hoban, Moore et al. Two Outbreaks of Foodborne Gastrointestinal Infection Linked to Consumption of Imported Melons, United Kingdom, March to August 2021. *J Food Prot*. 2023;86(1):1-9.
4. European Centre for Disease Prevention and Control, European Food Safety Authority, 2021. Multi-country outbreak of Salmonella Braenderup ST22, presumed to be linked to imported melons - 20 July 2021. Stockholm ECDC/EFSA; 2021.
5. Pijnacker, Dallman, Tijsma et al. An international outbreak of Salmonella enterica serotype Enteritidis linked to eggs from Poland: a microbiological and epidemiological study. *Dis. Lancet Inf Dis*. 2019;778-86.