

CENTRE NATIONAL DE RÉFÉRENCE SALMONELLA

Rapport annuel 2023

—

Sciensano
Maladies infectieuses humaines - Maladies bactériennes
CNR Salmonella & Shigella

Juillet 2023 • Bruxelles • Belgique

—
MATTHEUS, WESLEY

•

CEYSSENS, PIETER-JAN

•

VAN DEN BOSSCHE, AN

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

Avec le support financier de:



Flanders
State of the art



Veillez citer comme suit: Centre National de Référence pour Salmonella, Rapport annuel 2020. 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.

- Depuis 2023, 50% des souches ser. Enteritidis et Typhimurium reçues ont fait l'objet d'un analyse prospectif par séquençage du génome entier (WGS), ainsi que tous les isolats invasifs et liés à des épidémies. Pour l'instant, cette opération est financée par des projets *ad hoc*.
- En 2023, le Centre national de référence a reçu un total de 2408 isolats de Salmonella provenant de **2100 patients uniques**, soit une diminution de 13,2 % par rapport à 2022, ce qui confirme la baisse globale de la prévalence de Salmonella spp.
- La majorité des souches de Salmonella (89,4 %) ont été isolées à partir de matières fécales. En 2023, 6,4% des souches ont été isolées dans le sang, ce qui représente une augmentation par rapport aux années précédentes (4,1% en 2022).
- Bien qu'aucun changement significatif dans la distribution des sérotypes parmi les souches humaines de Salmonella n'ait été observé pendant la pandémie, c'est le cas depuis 2022. Depuis 2022, **le sérotype dominant dans notre pays est S. enterica serovar Enteritidis (681/2100, 32,4%)**, appartenant au sérotype O:9 (D1), qui représente au total 35,9% des souches. L'augmentation observée de ce sérotype en 2021 et 2022 est donc confirmée en 2023, bien qu'une légère diminution du nombre absolu d'échantillons ait été observée. Cette augmentation s'accompagne d'une diminution frappante de la prévalence du sérovar Typhimurium depuis la pandémie, de 21,3 % en 2019 à 13,4 % en 2023.
- Dans le groupe des sérotypes moins courants, la plupart des sérotypes présentent une prévalence stable. Pendant la pandémie, nous avons observé une forte baisse de la prévalence des souches typhoïdiques et des sérotypes Chester (O:4) et Kentucky (O:8), probablement en raison de la nature liée aux voyages de ces infections. En 2023, ces types sont de nouveau au niveau prépandémique, voire au-dessus de ce niveau pour Chester (63/2100, 3%).
- Les souches **typhoïdiques** représentaient au total 2,05% (42/2100) de l'ensemble des souches, contre 1,1% en 2022. Ces souches se répartissent entre Typhi (1,3 %), Paratyphi A (0,4 %) et Paratyphi B (0,3 %). Cela ramène le pourcentage de souches de typhoïde aux niveaux prépandémiques (1,8 % en 2019).
- Le CNR a reçu un total de 134 isolats uniques isolés à partir d'hémocultures en 2023, soit **une proportion plus élevée (6,4%)** par rapport aux années précédentes. Comme prévu, la majorité des isolats de typhoïde étaient invasifs (61,9%). Parmi les salmonelloses invasives non typhoïdiques (iNTS), les sérovars les plus invasifs (n>2) étaient Dublin (56,5%) et Chester (7,9%).
- En 2023, un total de 12,8% des isolats belges de Salmonella testés étaient MDR (Tableau 7), en baisse de 0,3% par rapport à 2022. Le sérovar le plus résistant reste S. Kentucky avec 59,5% d'isolats MDR. La prévalence de la MDR dans le sérotype Typhimurium était de 25 %, soit le même niveau qu'en 2022.
- Après une baisse de quatre ans (2018-2021), la résistance à la **ciprofloxacine** a de nouveau fortement augmenté après 2022. La proportion de Salmonella spp peu résistantes (0,06<MICCIP<2 µg/ml) est passée de 11,7 % en 2021 et 17,3 % en 2022 à 26,0 % en 2023. En outre, le groupe d'isolats hautement résistants est passé de 1,5 % en 2021 et 3,8 % en 2022 à 8,2 % du nombre total de Salmonella spp. testées en 2023.
- Le CNR a publié **huit articles** évalués par des pairs concernant la surveillance nationale et internationale des infections à Salmonella. Ces publications sont disponibles gratuitement via le lien figurant à la section 4.2.

TABLE DES MATIERES

CONTENU

● 1. INTRODUCTION	5
1.1. Objectif	5
1.2. Qualité	5
● 2. METHODOLOGIE	6
2.1 Définitions	6
2.2 Collections des souches et métadonnées	6
2.3 Taxonomie et flux de travail du CNR	6
2.4 (Géno-) sérotypage	6
2.5 Résistance aux antibiotiques	7
2.6 Typage MLVA	7
2.7 Séquençage du génome entier	8
● 3. RESULTATS DES ANALYSES DE ROUTINE	9
3.1 Collection de souches: nombre et origine	9
3.2. Distribution des sérovars	10
3.3. Répartition géographique et épidémie	13
3.4. Salmonella spp. invasives	14
3.5. Infections liées au voyage	14
3.6. Résistance aux antibiotiques	15
3.7. Typage MLVA	17
● 4. RESEARCH & DEVELOPMENT (ENG)	19
4.1 Ongoing research projects at the NRC Salmonella	Error! Bookmark not defined.
4.2 Peer-reviewed publications (2020)	Error! Bookmark not defined.

1. INTRODUCTION

1.1. OBJECTIF

La tâche la plus importante du Centre national de référence (CNR) pour *Salmonella* consiste à assurer la surveillance épidémiologique des infections humaines à *Salmonella*. Le but de cette surveillance est de détecter les épidémies le plus rapidement possible, ainsi que leur origine et, à long terme, d'évaluer les tendances spatiales et temporelles de l'évolution de ces deux germes.

En outre, les souches de *Salmonella*, principalement isolées des denrées alimentaires, sont également sérotypées. Cela permet d'identifier tout lien entre la source de contamination et l'épidémie humaine. La surveillance épidémiologique des deux sérotypes les plus importants (Enteritidis et Typhimurium) était traditionnellement effectuée en réalisant un sous-typage, à savoir l'analyse MLVA (Multi Locus Variable Number of Tandem Repeats Analyses), mais depuis 2023, 50 % des souches Enteritidis et Typhimurium reçues sont également examinées par séquençage du génome entier (WGS), de même que tous les isolats invasifs. Le CNR surveille également la sensibilité aux antibiotiques des germes isolés.

Quand une épidémie est suspectée, le CNR met en garde le programme «Maladies infectieuses dans la population générale» qui prend alors les mesures nécessaires pour lancer une enquête chez les patients et informer l'AFSCA pour une enquête sur des aliments éventuellement contaminés. Ce suivi permet de contrôler les épidémies, de définir des mesures préventives et d'évaluer les mesures prises en faveur de la santé publique et de la protection des consommateurs.

Chaque mois, toutes les données de sous-typage sont transférées au système national de surveillance EpiStat et sont transmises chaque année au Réseau européen des maladies d'origine alimentaire et hydrique et des zoonoses (une organisation de lutte contre les infections entériques du Centre européen de prévention et de contrôle des maladies, ECDC). Ces données épidémiologiques peuvent être consultées par les inspecteurs sanitaires des Communautés, le réseau de laboratoires et les centres de référence à l'adresse

https://www.sciensano.be/nl/nationale-referentiecentra-voor-humane-microbiologie#nrc_nrl-block_1-1 et <https://epistat.sciensano.be/pro/analytics.aspx>.

Les tendances générales sont accessibles au public à l'adresse <https://epistat.sciensano.be/dashboard/>.

1.2. QUALITÉ

Depuis plus de 40 ans, le CNR s'efforce d'atteindre un niveau de qualité élevé, tant en termes d'analyses et d'études épidémiologiques qu'en termes de communication avec les correspondants et les clients.

En 2003, le Centre a introduit un système de qualité officiel, NBN et ISO/IEC 17025, pour officialiser la norme de qualité. Depuis le 22 juin 2004, le centre est accrédité. Les techniques de typage moléculaire et de sous-typage sont accréditées depuis juin 2013 selon la norme ISO15189.

Ce système garantit la précision et la validité des protocoles appliqués, la traçabilité des résultats de recherche, la justesse des résultats et l'indépendance technique du laboratoire. Ce système qualité crée également un lien de confiance entre le Centre, ses correspondants et ses clients grâce à la qualité des analyses effectuées.

En plus de l'introduction de ce système qualité officiel, le CNR encourage également activement l'introduction de techniques de biologie moléculaire, telles que le séquençage de nouvelle génération (NGS) et le typage multiplex. Ceux-ci permettent au Centre d'assurer et de mettre en œuvre son expertise dans les domaines de la santé publique et de la protection des consommateurs aux niveaux national et international.

2. METHODOLOGIE

2.1 DÉFINITIONS

La salmonellose est définie comme une infection humaine pour laquelle *Salmonella* est isolé. Cela peut être à la fois pour une personne en bonne santé ou une personne malade.

2.2 COLLECTIONS DES SOUCHES ET MÉTADONNÉES

Tout isolement de souches humaines de *Salmonella* provenant de laboratoires cliniques est envoyé au CNR sur une base volontaire, avec le formulaire d'informations sur les souches et l'épidémiologie.

Les métadonnées demandées contiennent l'âge, le sexe et le code postal du patient, ainsi que le syndrome associé et les informations en rapport avec des voyages récents et hospitalisations des patients. S'il existe déjà des caractéristiques d'antigène établies, celles-ci sont également demandées. En cas d'épidémie ou d'intoxication alimentaire collective, seules quelques souches de patients différents doivent être envoyées avec l'indication du nombre total de cas établis.

Dès réception, chaque échantillon reçoit un numéro unique sous la forme S23BD0000x, et les métadonnées enregistrées sont insérées numériquement dans le système STARLIMS (figure 1 pour le flux de travail du CNR). Après l'analyse, l'échantillon est stocké dans du glycérol à 20 % à -80°C.

Le CNR signale également des infections à *Salmonella* spp. aux inspecteurs de la santé dans toutes les régions de Belgique.

2.3 TAXONOMIE ET FLUX DE TRAVAIL DU CNR

Le genre *Salmonella* appartient à la famille des Enterobacteriaceae et comprend deux espèces:

- *S. enterica* (2557 sérotypes), subdivisé en 6 sous-espèces:
 - *S. enterica* sous-espèce *enterica* (1531 serovars) ou sous-espèce I
 - *S. enterica* sous-espèce *salamae* (505 serovars) ou sous-espèce II
 - *S. enterica* sous-espèce *arizonae* (99 serovars) ou sous-espèce IIIa
 - *S. enterica* sous-espèce *diarizonae* (336 serovars) ou sous-espèce IIIb
 - *S. enterica* sous-espèce *houtenae* (73 serovars) ou sous-espèce IV
 - *S. enterica* sous-espèce *indica* (13 serovars) ou sous-espèce VI
- *S. bongori* (22 serovars)

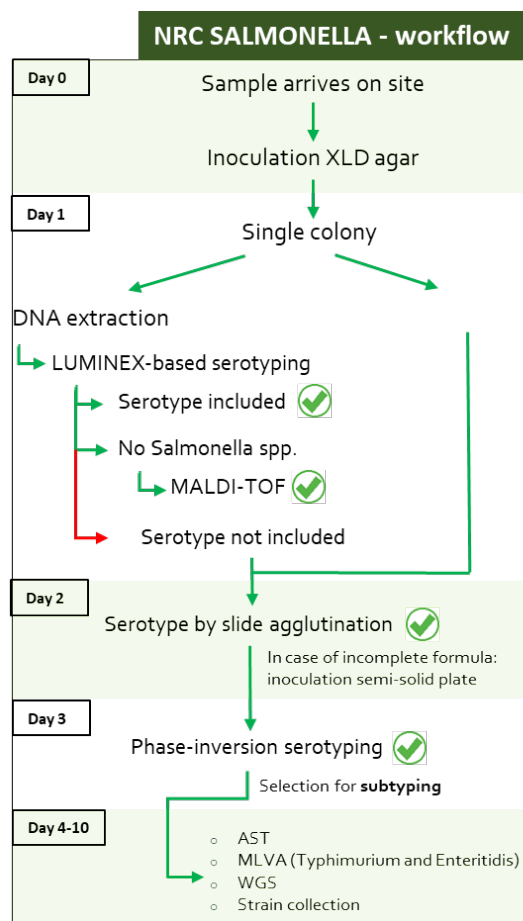


Figure 1. Flux de travail au CNR Salmonella, 2022. AST, antibioticum Susceptibility Testing. WGS, Whole-Genome Sequencing.

2.4 (GÉNO-) SÉROTYPAGE

Le sérotype d'une *Salmonella* est déterminé par une combinaison d'antigènes O somatiques, d'antigènes H flagellaires et d'antigènes de surface (Vi) selon le schéma de Kauffmann et White. Si nécessaire, des tests biochimiques supplémentaires sont effectués pour confirmer l'identification ou pour distinguer les différentes sous-espèces.

Depuis fin 2018, le CNR est passé au **géo-sérotypage développé en interne et accrédité ISO15189**, basé sur des billes Luminex xTAG (Figure 2). Cette méthode permet d'identifier les sérotypes les plus courants de *Salmonella* à l'aide de marqueurs génétiques spécifiques du sérotype, à partir d'un thermolysat issu d'une culture pure. Le test est divisé en quatre réactions multiplex pour maximiser la

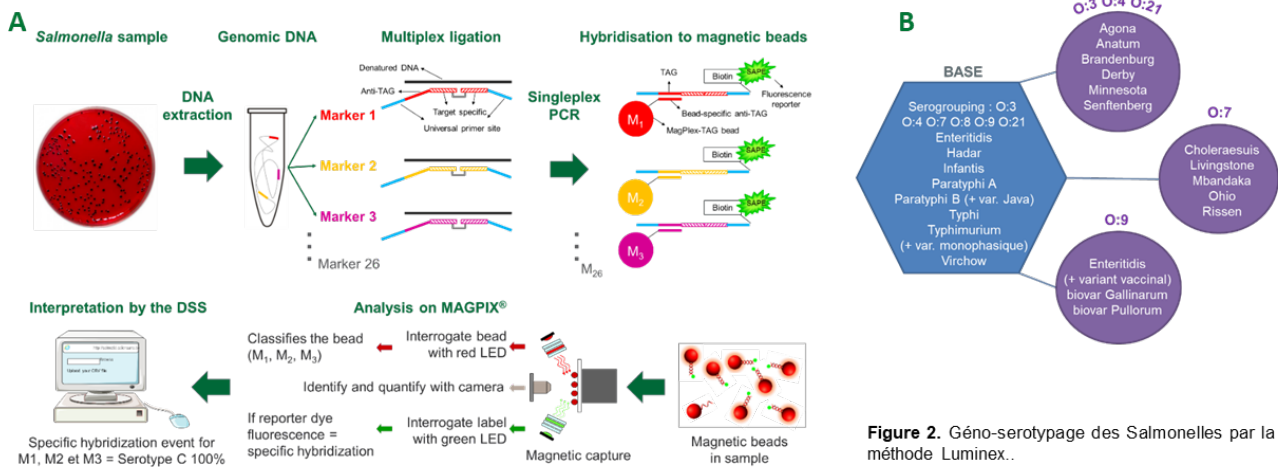


Figure 2. Génomique et sérotypage des Salmonelles par la méthode Luminex.

entabilité (Figure 2). Le module BASE peut identifier tous les sérovars qui doivent être légalement suivis (cf. règlement UE n° 2160/2003 et conseil Belge 03-2012), et peut simultanément orienter tout échantillon inconnu de *Salmonella* vers un groupe d'antigènes O. Le contexte technique de cette méthode est décrit en détail dans Gand *et al.* (2020), Food Microbiol. 87:10339.

Depuis 2017, l'antibiogramme est préparé par microdilution en bouillon (Sensititre™, Thermo Fisher), déterminant la valeur de la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour chaque antibiotique et interprété selon les recommandations de l'EUCAST. En l'absence de paramètres EUCAST, une interprétation est donnée via les valeurs ECOFF (tableau 2).

2.5 RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

Le CNR teste la sensibilité aux antibiotiques des souches humaines de *Salmonella* pour les 20 sérovars les plus fréquents, conformément à l'échantillon présenté dans la table 1. Dans le présent rapport, la multirésistance aux médicaments est définie comme résistante à plus de trois classes d'antibiotiques.

Tableau 1. Schéma de la sensibilité par sérovar.

Sérovar	Semaines				
	1-24	25-29	30-41	42-47	48-53
ENTERITIDIS	5	10	20	10	5
TYPHIMURIUM	5	10	10	5	5
AGONA	Tous les échantillons reçus				
ANATUM					
BRANDENBURG					
CHESTER					
CORVALIS					
DERBY					
DUBLIN					
HADAR					
HEIDELBERG					
INFANTIS					
KENTUCKY					
LIVINGSTONE					
PANAMA					
PARATYPHI					
SAINTPAUL					
STANLEY					
TYPHI					
VIRCHOW					

Tableau 2. Antibiotiques testés par microdilution en bouillon

Antibiotique	CODE	Conc. Testée (mg/L)	Point limite de sensibilité (mg/L)
AMPICILLINE	AMP	1-64	8.0
AZYTHROMYCINE	AZI	2-64	ND*
CEFOTAXIME	FOT	0.25-4	2.0
CEFTAZIDIME	TAZ	0.5-8	1.0
CHLORAMPHENICOL	CHL	8-64	ND*
CIPROFLOXACINE	CIP	0.015-8	0.06
COLISTINE	COL	0.5-8	2.0
ERTAPENEM	ETP	0.015-2	0.5
GENTAMICINE	GEN	0.5-16	2.0
MEROPENEM	MER	0.03-16	2.0
SULFAMETHOXAZOLE	SMX	32-1024	ND*
TETRACYCLINE	TET	2-64	ND*
TIGECYCLINE	TGC	0.25-8	ND*
TRIMETHOPRIM	TMP	0.5-16	4.0

* Pour l'interprétation, ce rapport utilise les valeurs ECOFF pour AZM (wt ≤ 16 µg/ml), CHL (wt ≤ 8 µg/ml), TCY (wt ≤ 4 µg/ml), SMX (wt ≤ 256 µg/ml) et TGV (S ≤ 1 µg/ml).

2.6 TYPAGE MLVA

Le typage des souches de *Salmonella enterica* sérovar Enteritidis avec la technique MLVA est effectué par le CNR conformément à l'article de Hopkins, tandis que le sérovar Typhimurium de *Salmonella enterica* est typé selon la méthode de Lindstedt. En 2020, cette technique a été appliquée à toutes les souches d'Enteritidis et Typhimurium.

2.7 SÉQUENÇAGE DU GÉNOME ENTIER

Depuis 2023, 50 % des souches Enteritidis et Typhimurium reçues sont également examinées par séquençage du génome entier (WGS), ainsi que tous les isolats invasifs. Dans ce cas, l'ADN génomique est extrait avec le kit MgC Bacterial DNA Kit™ avec un volume d'élution de 60 µl (Atrida, NL), conformément aux instructions du fabricant. Les banques de séquençage sont créées à l'aide du kit de préparation d'échantillons d'ADN Illumina Nextera XT, puis séquencées à l'aide d'un instrument Illumina MiSeq avec un protocole 250-bp paired-end (chimie MiSeq v3), conformément aux instructions du fabricant.

3. RESULTATS DES ANALYSES DE ROUTINE

3.1 COLLECTION DE SOUCHES: NOMBRE ET ORIGINE

3.1.1 NOMBRES DE SOUCHES

Au cours de l'année écoulée, le CNR a procédé au typage d'isolats humains de Salmonella pour le compte de 128 laboratoires. En 2023, le CNR a reçu 2408 souches humaines de Salmonella pour typage, ce qui représente 2100 cas uniques de salmonellose, soit une diminution de 13,2% par rapport à 2022, confirmant la diminution globale de la prévalence de Salmonella spp (Figure 3, ci-dessus). Par rapport aux cinq années précédentes, le CNR a reçu moins d'échantillons de Salmonella, principalement au cours du premier semestre 2023 (Figure 3, panneau 3).

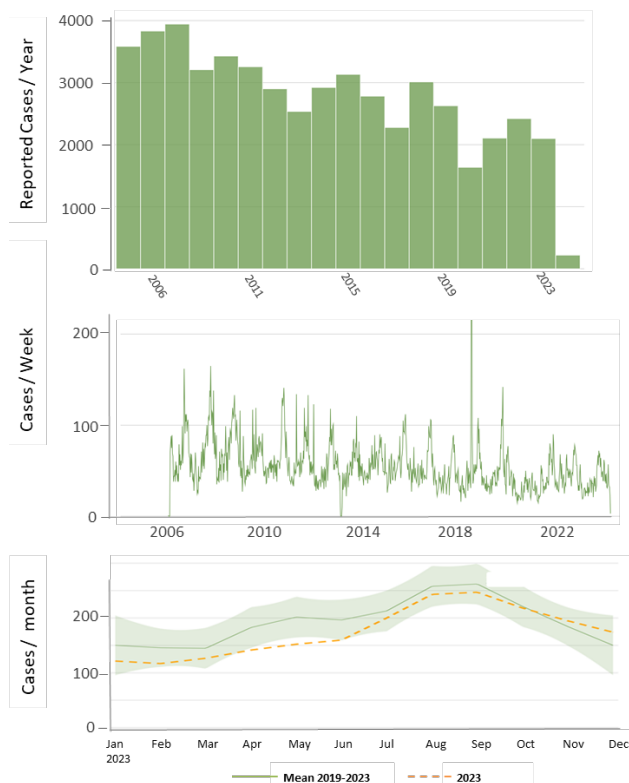


Figure 3. En haut : Nombre total de Salmonella spp. uniques examinées au CNRC, indiqué pour la période 2007-2023. En dessous : Résumé des nombres d'échantillons hebdomadaires et mensuels/quotidiens au CNR au cours de la période 2010-2023 et 2023, respectivement, avec le pic notable en 2018 lié à la grande épidémie de *S. enterica* serovar Typhimurium en mai 2018.

L'année dernière, 16 (0,7%) des souches soumises n'étaient pas des Salmonella spp. Ceci a été décidé sur base des

réactions biochimiques (Kligler-Hajna, uréase), de l'absence d'agglutination lors du sérotypage avec le sérum omnivalent et/ou du résultat du géosérotypage Luminex. Après vérification par MALDI-TOF, la majorité a été identifiée comme d'autres entérobactéries (*E. coli* ou *Citrobacter* spp.).

3.1.2 DISTRIBUTION EN FONCTION DE L'ÂGE ET DU SEXE

Comme les autres années, l'incidence la plus élevée de salmonellose, confirmée après sérotypage, a été observée chez les enfants de moins de 5 ans (20,4 % des cas), suivis par le groupe d'âge entre 5 et 10 ans (11,9 %) (figure 4). L'importance relative de ces groupes a légèrement diminué par rapport aux années précédentes. La répartition entre la population masculine et la population féminine était légèrement différente (M/F 0,85).

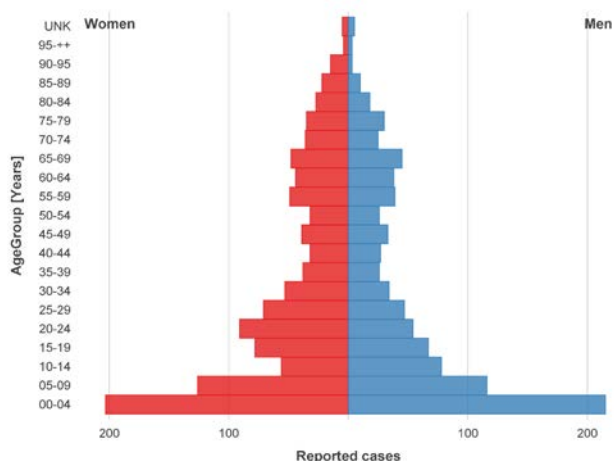


Figure 4. Pyramide des âges générée pour les souches confirmées de Salmonella en 2023.

3.1.3 SPÉCIMENS

La majorité des souches de Salmonella (89,4%) ont été isolées dans les fèces. En 2023, 6,4% des souches ont été isolées à partir du sang, ce qui représente une augmentation par rapport aux années précédentes (4,1% en 2022). L'origine de toutes les souches est présentée dans le tableau 3.

Tableau 3. Origine des isolats.

Specimen	N	%
FAECES	1871	89,4
SANG	134	6,4
URINE	44	2,1
FAECES+SANG	9	0,4
PUS	8	0,4
SPUTUM	2	0,1
LIQUIDE PLEURAL	2	0,1
LIQUIDE PERITONEALE	1	0,05
ABCES	1	0,10
AUTRE/INCONNU	17	0,8

3.2. DISTRIBUTION DES SÉROVARS

La table 4 présente les fréquences absolues et relatives de tous les **193 sérovars** identifiés en 2022.

Table 4. Sérovars identifiés en 2023.

O:2 (A)		
SEROVAR	N	%
PARATYPHI A	6	0,29
O:4 (B)		
SEROVAR	N	%
MONOPHASIC TYPHIMURIUM	352	16,76
TYPHIMURIUM	283	13,48
CHESTER	63	3,00
DERBY	33	1,57
SAINTPAUL	24	1,14
AGONA	24	1,14
PARATYPHI B VAR. L(+) TARTRATE+	15	0,71
STANLEY	17	0,81
BRANDENBURG	10	0,48
PARATYPHI B	9	0,43
STANLEYVILLE	6	0,29
BREDENEY	6	0,29
SANDIEGO	4	0,19
SCHWARZENGRUND	6	0,29
ABONY	6	0,29
INDIANA	4	0,19
HEIDELBERG	3	0,14
READING	3	0,14
COELN	3	0,14
KIAMBU	2	0,10
WAGENIA	1	0,05
ARECHAVALETA	1	0,05
HAIFA	1	0,05
BRANCASTER	1	0,05
SHUBRA	1	0,05
KINGSTON	1	0,05
ITURI	1	0,05
KISANGANI	1	0,05
SUBSPI [I 4,5:b:-]	5	0,24
SUBSPI [I 4,5:y:-]	3	0,14
SUBSPI [I 4:l,v:-]	4	0,19
SUBSPI [I 4:-:-]	3	0,14
SUBSPI [I 4,5:e,h:-]	2	0,10
SUBSPI [I 4,5:-:1,2]	2	0,10
SUBSPI [I 4:b:-]	1	0,05
SUBSPI [I 4:-:enx]	1	0,05
O:7 (C1)		
SEROVAR	N	%
INFANTIS	55	2,62
BRAENDERUP	27	1,29
MIKAWASIMA	13	0,62

VIRCHOW	12	0,57
MONTEVIDEO	7	0,33
RISSEN	7	0,33
LIVINGSTONE	5	0,24
BAREILLY	5	0,24
THOMPSON	4	0,19
MBANDAKA	3	0,14
SINGAPORE	3	0,14
LAROCHELLE	1	0,05
ORANIENBURG	3	0,14
ISANGI	3	0,14
KENYA	2	0,10
TENNESSEE	2	0,10
COLINDALE	2	0,10
OSLO	2	0,10
MENSTON	2	0,10
CHOLERAESUIS VAR. KUNZENDORF	1	0,05
OTHMARSCHEN	1	0,05
LANGEVELD	1	0,05
KAMBOLE	1	0,05
POTSDAM	1	0,05
STRATHCONA	1	0,05
IRUMU	1	0,05
SUBSPI [I 7:e,h:-]	2	0,10
SUBSPI [I 7:mt:-]	2	0,10
SUBSPI [I 6,7:y:-]	2	0,10
SUBSPI [I 7:k:-]	1	0,05
SUBSPI [I 7:-:-]	1	0,05
SUBSPI [I 7:-:1,5]	1	0,05
SUBSPI [I 7:y:-]	1	0,05
SUBSPI [I 7:-:1,7]	1	0,05
SUBSPI [I 7:-:1,7]	1	0,05
SUBSPI [I 7:z4,z23:-]	1	0,05
SUBSPI [I 6,7:z4,z23:-]	1	0,05
O:8 (C2-C3)		
SEROVAR	N	%
KENTUCKY	41	1,95
NEWPORT	25	1,19
BOVISMORBIFICANS	10	0,48
HADAR	9	0,43
KOTTBUS	8	0,38
BLOCKLEY	7	0,33
CORVALLIS	7	0,33
MANHATTAN	6	0,29
MUENCHEN	2	0,10
BARDO	2	0,10
LITCHFIELD	2	0,10
ALTONA	2	0,10
MANCHESTER	2	0,10
HAARDT	2	0,10
MOLADE	1	0,05
YOVOKOME	1	0,05
TAKORADI	1	0,05
ALBANY	1	0,05
UTAH	1	0,05
SANGA	1	0,05
GOLDCOAST	1	0,05

STOURBRIDGE	1	0,05
SUBSPI [I 6.8:eh:-]	2	0,10
SUBSPI [I 8,20:i:-]	1	0,05
SUBSPI [I 8,20:r:-]	1	0,05
SUBSPI [I 8;z4,z23:-]	1	0,05
SUBSPI [I 8:-:e,n,x]	1	0,05
SUBSPI [I 8:-:enz15]	1	0,05
SUBSPI [I 8:b:-]	1	0,05
SUBSPI [I 6,8,20:d:-]	1	0,05

O:9 (D1)

SEROVAR	N	%
ENTERITIDIS	681	32,43
TYPHI	28	1,33
DUBLIN	23	1,10
PANAMA	4	0,19
KAPEMBA	3	0,14
GUEULETAPEE	2	0,10
JAVIANA	2	0,10
DURBAN	1	0,05
BERTA	1	0,05
ISRAEL	1	0,05
MIAMI	1	0,05
WANGATA	1	0,05
NAPOLI	1	0,05
EASTBOURNE	1	0,05
SUBSPI [I 9:l,v:-]	3	0,14
SUBSPI [I 9:l,z13:-]	1	0,05
SUBSPI [I 9:-:1,7]	1	0,05

O:9,46 (D2)

SEROVAR	N	%
HILLINGDON	2	0,10
DOBA	1	0,05

O:3,10 (E1)

SEROVAR	N	%
ANATUM	7	0,33
LONDON	8	0,38
UGANDA	3	0,14
WELTEVREDEN	4	0,19
MUENSTER	4	0,19
ELISABETHVILLE	3	0,14
CLERKENWELL	1	0,05
GIVE	1	0,05
VEJLE	1	0,05
NYBORG	1	0,05
OXFORD	1	0,05
MUENSTER VAR. 15+	1	0,05
SUBSPI [I 3,10:-:1,7]	1	0,05
SUBSPI [I 3: -:-]	1	0,05
SUBSPI [I 3,10:l,v:-]	1	0,05
SUBSPI [I 3,10:-:1,5]	1	0,05
SUBSPI [I 3:d:enz15]	1	0,05

O:1,3,19 (E4)

SEROVAR	N	%
CANNSTATT	1	0,05
SENFTEMBERG	1	0,05
LIVERPOOL	1	0,05
PARKROYAL	1	0,05
SUBSPI [I 3,19:d:-]	2	0,10
SUBSPI [I 3.19:l,v:-]	1	0,05

O:11 (F)

SEROVAR	N	%
TELHASHOMER	1	0,05
RUBISLAW	1	0,05
HERZLIYA	1	0,05
SUBSPI [I 11: y: -]	1	0,05

O:13 (G)

SEROVAR	N	%
POONA	6	0,29
HAVANA	4	0,19
IBADAN	3	0,14
OKATIE	2	0,10
AGBENI	1	0,05
TELELKEBIR	2	0,10
FARMSEN	1	0,05
ORDONEZ	1	0,05
KEDOUGOU	1	0,05
MISHMARHAEMEK	1	0,05
SUBSPI [I 13,23:i:-]	2	0,10
SUBSPI [I 13,22:z:-]	1	0,05
SUBSPII [II 13.22: z29: 1.5]	1	0,05
SUBSPII [II 13,22: g,t]	1	0,05

O:6,14 (H)

SEROVAR	N	%
ONDERSTEPOORT	1	0,05
FLUNTERN	1	0,05

O:17 (J)

SEROVAR	N	%
DAHRA	1	0,05

O:18 (K)

SEROVAR	N	%
TOULON	1	0,05
SUBSPI [I 18;z4z23:-]	1	0,05
SUBSPI [I 18:- :1.5]	1	0,05

O:21 (L)

SEROVAR	N	%
MINNESOTA	2	0,10

O:28 (M)		
SEROVAR	N	%
ANK	3	0,14
UMBILO	1	0,05
POMONA	2	0,10
NIMA	1	0,05
SEATTLE	1	0,05
O:30 (N)		
SEROVAR	N	%
URBANA	1	0,05
NEUDORF	1	0,05
O:35 (O)		
SEROVAR	N	%
MONSCHAUI	2	0,10
ADELAIDE	2	0,10
GAMBIA	1	0,05
ANECHO	1	0,05
O:40 (R)		
SEROVAR	N	%
SUBSPI [I 40: b: -]	1	0,05
O:43 (V)		
SEROVAR	N	%
EPALINGES	2	0,10
O:50 (Z)		
SEROVAR	N	%
SubspIIIb [IIIb 50:-:-]	1	0,05
O:61		
SEROVAR	N	%
SubspIIIb [IIIb 61:l,v:1,5,7]	1	0,05
O:65		
SEROVAR	N	%
SubspIIIb [IIIb 65: c: z]	1	0,05
NOT TYPABLE		
SEROVAR	N	%
NOT TYPABLE	8	0,39

Bien qu'aucun changement significatif dans la distribution des sérotypes parmi les souches humaines de Salmonella n'ait été observé pendant la pandémie, c'est le cas depuis 2022. Depuis 2022, le sérotype dominant dans notre pays est *S. enterica* serovar Enteritidis (681/2100, 32,4%), appartenant au séro groupe O:9 (D1), qui représente au total 35,9% des souches. L'augmentation observée de ce sérotype en 2021 et 2022 est donc confirmée en 2023, bien qu'une légère diminution du nombre absolu d'échantillons ait été observée. Nous renvoyons à la section 3.3 pour une discussion sur cette prévalence élevée.

Cette augmentation s'accompagne d'une diminution frappante de la prévalence du sérovar Typhimurium depuis la pandémie, passant de 21,3 % en 2019 à 10,4 % en 2022 et 13,4 % en 2023. La prévalence de la variante monophasique continue également de diminuer pour atteindre 16,7 % (352/2100) en 2023 (Figure 5).

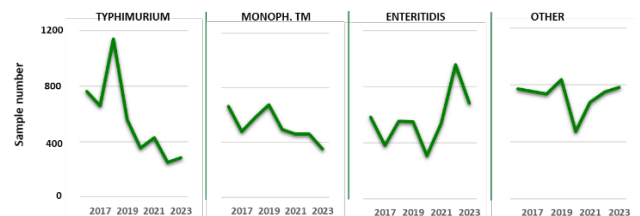
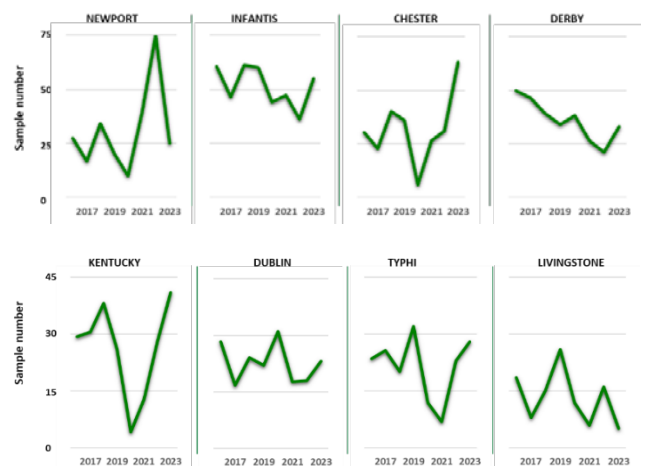


Figure 5. Évolution du nombre absolu d'échantillons des trois principaux sérovars de Salmonella pour la période 2016-2023.

Dans le groupe des sérotypes moins courants, la plupart des sérotypes présentent une prévalence stable, à l'exception du suivant (figure 6) :

- L'augmentation marquée du sérotype ser. Newport (2021-2022) n'a pas été observée en 2023, et ce sérovar est revenu à son niveau de base (1,2 %) en 2023.
- La prévalence du ser. Derby a diminué de manière significative au cours des 5 dernières années.
- L'augmentation de la prévalence du ser. Braenderup a été confirmée en 2023, atteignant 1,1% (27/2100) des échantillons transmis.



Les figures 5 et 6 présentent les fréquences relatives des principaux sérovars de Salmonella par rapport aux six années précédentes (2016-2023).

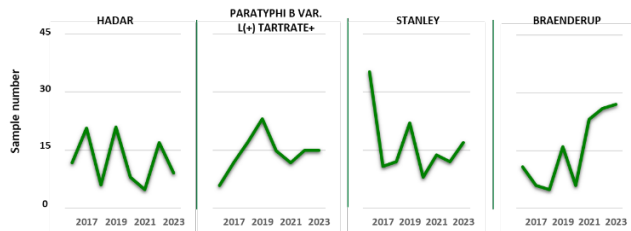


Figure 6. Fréquence absolue des sérovars de Salmonella dont la prévalence est supérieure à 0,5 %, pour la période 2016-2023.

Pendant la pandémie, on observe une forte diminution des prévalences des souches typhoïdes et des sérotypes Chester (O:4) et Kentucky (O:8), vraisemblablement en raison du caractère lié aux voyages de ces infections. En 2023, ces types sont à nouveau au niveau pré-pandémique, voire au-dessus pour Chester (63/2100, 3%).

Les souches typhoïdiques représentaient au total 2,05 % (42/2100) de l'ensemble des souches, contre 1,1 % en 2022. Elles se répartissent entre Typhi (1,3 %), Paratyphi A (0,4 %) et Paratyphi B (0,3 %). Cela ramène le pourcentage de souches typhoïdiques aux niveaux pré-pandémiques (1,8% en 2019).

Enfin, 8/2100 (0,4%) des souches soumises ont été identifiées comme Salmonella mais classées comme non typables. Pour ces souches, aucun sérotype n'a pu être identifié par auto-agglutination avec les sérums.

3.3. RÉPARTITION GÉOGRAPHIQUE ET ÉPIDÉMIE

3.3.1 NIVEAU NATIONALE

La figure 7 donne un aperçu de la répartition géographique des salmonelloses humaines. Pour 99 souches (8,5%), l'origine était inconnue. En 2023, tous sérotypes confondus, le nombre moyen de cas confirmés entre les régions était très similaire, avec 19,5 infections/100000 habitants en Flandre, 15/100000 à Bruxelles et 15,5/100000 en Wallonie.

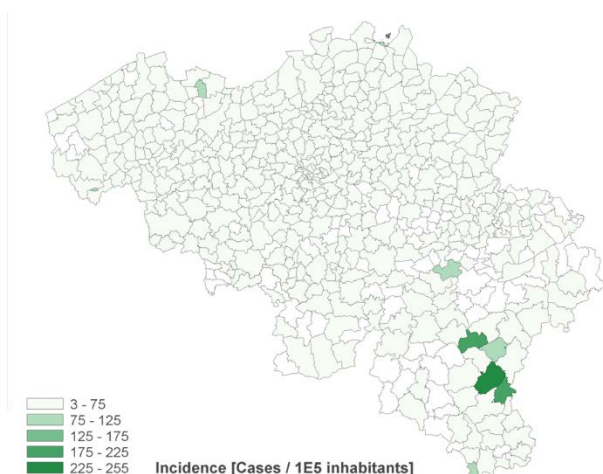


Figure 7. Incidence de l'ensemble des salmonelloses humaines par district (en haut) et par municipalité (en bas), sur la base du nombre de cas confirmés par le CNR. Pour 100 000 habitants, période 2023.

Sur la base des données du CNR, trois augmentations notables de sérotypes et/ou de profils MLVA sur une courte période ont été observées en 2023 :

Au cours des quatre premiers mois de 2023, une augmentation inhabituelle du sérovar Enteritidis avec le profil MLVA 2-9-7-3-2 a été observée (30 cas). L'analyse NGS a confirmé qu'il s'agissait d'un groupe de cas quasi-identiques. Les cas étaient dispersés sur l'ensemble du territoire. Cette souche présente une affinité génétique étroite avec la souche à l'origine d'une épidémie internationale majeure en 2016 et liée à des œufs polonais.

Au cours des mois d'octobre et de novembre, une augmentation inhabituelle du sérovar monophasique Typhimurium avec le profil MLVA 3-12-15-NA-211 a été observée (28 cas). L'analyse NGS a confirmé qu'il s'agissait d'un groupe de cas quasi-identiques. Les cas étaient dispersés en Flandre, mais plus nombreux en Flandre orientale et occidentale. Aucune source spécifique n'a pu être identifiée et, après cette brève recrudescence, le nombre de cas observés s'est à nouveau normalisé.

La souche du sérotype Enteritidis avec le profil MLVA 2-11-7-3-2 qui a été responsable d'une épidémie majeure en 2022 et qui, à l'époque, pouvait être liée à des œufs contaminés provenant d'un grand élevage de poules pondeuses belge, a encore été observée de manière sporadique dans l'ensemble du pays au cours des 10 premiers mois de l'année 2023. Cependant, entre novembre et décembre 2023, une forte augmentation a été observée, principalement concentrée dans la région autour de Bastogne (Figure 7). Cependant, aucun problème n'a été observé dans l'exploitation initialement touchée. Entre-temps, la souche provoque également des foyers au niveau international, y compris en Suède (2023-FWD-0006).

3.3.2 NIVEAU INTERNATIONALE

En 2023, un grand nombre d'alertes concernant d'éventuelles épidémies ont été publiées sur la plateforme internationale EpiPulse de l'ECDC. Pour 43 alertes, une enquête sur des cas potentiellement liés en Belgique a pu être menée. Pour 9 alertes, des cas liés (historiques ou non) ont été trouvés :

En juillet, le Danemark a signalé une augmentation de Salmonella Enteritidis de type de séquence ST11 via le système d'alerte européen. Il s'agissait de trois groupes génétiques différents pour lesquels des cas ont été signalés par 14 pays différents de l'UE/EEE. Au total, 335 cas ont été confirmés, dont 10 en Belgique. Après une enquête approfondie, la source a pu être retracée jusqu'à un producteur de kebab de poulet de Pologne.

En juillet, le Royaume-Uni a signalé une augmentation du nombre de Salmonella Enteritidis de type de séquence ST11 par l'intermédiaire du système d'alerte européen. Il s'agissait de cinq groupes génétiques différents pour lesquels un grand nombre de cas ont fait état d'un voyage récent en Turquie. Au total, plus de 500 cas ont été confirmés dans 9

pays différents de l'UE/EEE, dont la Belgique. Les autorités turques ont été contactées pour un complément d'enquête.

3.4. SALMONELLA SPP. INVASIVES

Le CNR a reçu un total de 134 isolats uniques isolés à partir d'hémocultures en 2023 (Tableau 5), soit une proportion plus élevée (6,4%) par rapport aux années précédentes. Comme prévu, la majorité des isolats de typhoïde étaient invasifs (61,9%). Parmi les salmonelloses invasives non typhoïdiques (iNTS), les sérovars les plus invasifs (n>2) sont Dublin (56,5%) et Chester (7,9%). L'observation la plus frappante au sein de ce groupe iNTS est que la proportion d'isolats invasifs de ser. Enteritidis (de 3,2% à 4,4%) et Typhimurium (de 1,5% à 6%) a augmenté en 2023.

Tableau 5. Bactériémies liées à *Salmonella*, 2023. Le nombre absolu d'isolats par sérotype et la fraction du nombre de bactéries pour les différents sérotypes sont indiqués.

SEROTYPE	Nbloed	Ntot	%
ENTERITIDIS	30	681	4,4
TYPHI	18	28	64,3
TYPHIMURIUM	17	283	6,0
DUBLIN	13	23	56,5
SUBSPI	7	NA	NA
CHESTER	5	63	7,9
MONO TM	5	352	1,4
PARATYPHI A	5	6	83,3
INFANTIS	3	55	5,5
PARATYPHI B	3	9	33,3
IBADAN	2	3	66,7
SANDIEGO	2	4	50
STANLEYVILLE	2	6	33,3
VIRCHOW	2	12	16,7
AGBENI	1	1	100
AGONA	1	24	4,2
AUTO-AGGLUTINABLE	1	2	50
CHOLERAESUIS	1	1	100
DERBY	1	33	3,0
ELISABETHVILLE	1	3	33,3
HEIDELBERG	1	3	33,3
KAPEMBA	1	3	33,3
KENTUCKY	1	41	2,4
MONSCHAUI	1	2	50
NEWPORT	1	25	4,0
OKATIE	1	2	50
OTHMARSCHEN	1	1	100
PANAMA	1	4	25,0
PARATYPHI B VAR. L(+)		15	6,7
TARTRATE+	1		
SAINTPAUL	1	24	4,2
STANLEY	1	17	5,9
SUBSPVI	1	1	100
TELELKEBIR	1	2	50
UGANDA	1	3	33,3

3.5. INFECTIONS LIÉES AU VOYAGE

Davantage de salmonelloses liées à des voyages ont à nouveau été détectées en 2023. Cette année, 168/2100 (8,0%) des échantillons de *Salmonella* investigués étaient liés à un séjour récent à l'étranger, contre 2,7% (2021) et 5,3% (2022) les années précédentes. Près de la moitié des salmonelloses liées à un voyage (n=81) provenaient d'Afrique.

Ces souches importées provenaient de 52 pays différents, couvrant principalement des cas individuels (tableau 6). Le plus grand nombre de souches uniques a été isolé chez des patients ayant séjourné récemment au Maroc (n=33), en Espagne (n=14) et en Turquie (n=12). Le plus grand nombre de souches de typhoïde était lié à des voyages en Inde (n=10) et au Pakistan (n=9).

Tableau 6. Souches de *Salmonella* liées à un récent séjour à l'étranger, 2023.

AFRICA			
	Serovar	N	
Marocco	CHESTER	11	
	KENTUCKY	5	
	ENTERITIDIS	5	
	TYPHIMURIUM	3	
	BREDENEY	3	
	SUBSPI [I 4:I	1	
	PANAMA	1	
	BOVISMORBIFICANS	1	
	NEWPORT	1	
	BLOCKLEY	1	
	HAARDT	1	
	Senegal	SHUBRA	1
		ORDONEZ	1
		MOLADE	1
CHESTER		1	
PARATYPHI A		1	
DURBAN		1	
BAREILLY		1	
ENTERITIDIS		1	
Egypt		ENTERITIDIS	2
		INFANTIS	1
	AGONA	1	
	KENTUCKY	1	
	TYPHIMURIUM	1	
	HADAR	1	
	HEIDELBERG	1	
	South Africa	TYPHIMURIUM	1
ENTERITIDIS		1	
BOVISMORBIFICANS		1	
BRAENDERUP		1	
Algeria	SAINTPAUL	2	
	ENTERITIDIS	1	
Togo	TYPHIMURIUM	1	
	ITURI	1	
Guinea	TYPHI	1	
	ENTERITIDIS	1	
Gambia	GUEULETAPEE	1	
Cape Verde	ENTERITIDIS	1	
Djibouti	READING	1	
CAR	SUBSPI [I 13:-]	1	

Guatemala	ENTERITIDIS	1
Congo	COLINDALE	1
	THOMPSON	1
	UGANDA	1
	ENTERITIDIS	1
	SUBSPI [I 35:-:]	1
Cameroon	ENTERITIDIS	1
Tanzania	KENTUCKY	1
Tunisia	ENTERITIDIS	3
	SPECIES	1
	LANGVELD	1
Ghana	STANLEYVILLE	1
Réunion	TYPHIMURIUM	1
Kenya	NEWPORT	1

ASIA		
Pakistan	TYPHI	7
	PARATYPHI A	2
India	TYPHI	7
	PARATYPHI A	3
Iran	PARATYPHI B	1
Lebanon	ENTERITIDIS	1
Thailand	ENTERITIDIS	1
	STANLEY	1
	POONA	1
Vietnam	STANLEY	1
China	MONO TM	1
Indonesia	CHESTER	1
	SUBSPI [I 9:I:1]	2
	PARATYPHI B VAR. L(+) TARTRATE+	1

EUROPE		
Spain	ENTERITIDIS	7
	TYPHIMURIUM	3
	CHESTER	2
	DERBY	1
	SINGAPORE	1
Portugal	MONO TM	1
	ENTERITIDIS	1
Turkey	ENTERITIDIS	11
	MONO TM	1
Hungary	SUBSPI [I 6	1
Bulgaria	KOTTBUS	1
France	MONO TM	1
Serbia	ENTERITIDIS	1
Greece	ENTERITIDIS	1
Romania	MONO TM	1
	ENTERITIDIS	1
Switzerland	MONO TM	1
Italy	BRAENDERUP	1
Austria	STRATHCONA	1
Armenia	ENTERITIDIS	1
Albania	TYPHIMURIUM	1
	ENTERITIDIS	1

AMERICA		
Mexico	CORVALLIS	1
	NEWPORT	1
	INFANTIS	1
Argentina	ENTERITIDIS	1

	SANDIEGO	1
	PARATYPHI B	1
Dom. Republic	ENTERITIDIS	1
Bolivia	PARATYPHI B	1
Colombia	CORVALLIS	1
Peru	PARATYPHI B	1
Curacao	ENTERITIDIS	1
Cambodia	STANLEY	1
Cuba	INFANTIS	1
	ENTERITIDIS	1
Costa Rica	PANAMA	1
	ENTERITIDIS	1

3.6. RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

Bien que la salmonellose soit une maladie autolimitée, un traitement par antibiotique est nécessaire en cas d'infection extra-intestinale invasive à *Salmonella*, chez les patients à haut risque ou chez les patients présentant des symptômes graves ou prolongés. Le traitement standard actuel est basé sur la Ciprofloxacine (500 mg), le Cotrimoxazole (960 mg) ou la Ceftriaxone (1g IV) pendant 5-7 jours.

La surveillance annuelle de la résistance aux antimicrobiens (RAM) chez *Salmonella* est donc nécessaire pour des raisons de santé publique. Dans le passé, la résistance était principalement liée à un élément génétique chromosomique appelé l'îlot génomique 1 de *Salmonella* (SGI-1). Cet élément est à l'origine de la penta-résistance [R-ACSSuT : résistance à l'ampicilline, au chloramphénicol, à la streptomycine, aux sulfamides et à la tétracycline], apparue au début des années 1980 en Angleterre et au Pays de Galles et principalement associée au phage *S. enterica* serovar Typhimurium de type DT104. Dans les années 1990, elle était présente dans le monde entier sous de nombreux sérotypes, mais elle a depuis décliné. Parmi les tendances mondiales plus récentes, citons (i) l'augmentation de la résistance aux fluoroquinolones (FQ) telles que la ciprofloxacine, (ii) l'émergence sporadique d'une résistance aux céphalosporines à large spectre et (iii) la résistance présumée à la colistine liée au plasmide, causée par des variantes du gène *mcr*.

Depuis 2000, une surveillance systématique de la sensibilité aux antibiotiques de *Salmonella* est menée par le Centre national de référence. Depuis 2017, des changements importants ont été apportés au protocole de routine pour la surveillance de la RAM au CNR. Tout d'abord, le calendrier des sérotypes à tester a été élargi pour inclure les sérotypes qui sont globalement associés à la RAM. En outre, l'antibiogramme de tous les isolats invasifs a été déterminé, ainsi que celui de toutes les salmonelloses associées aux voyages.

Ensuite, on est passé de la diffusion sur disque à la microdilution en bouillon en utilisant des plaques Sensititre (Thermo Scientific) fabriquées sur mesure. La raison en est double :

- Pour tester la résistance à la colistine, ce qui n'était pas possible avec la diffusion sur disque.
- Déterminer les valeurs de CMI pour chaque combinaison bactérie-antibiotique, afin de permettre la comparaison avec

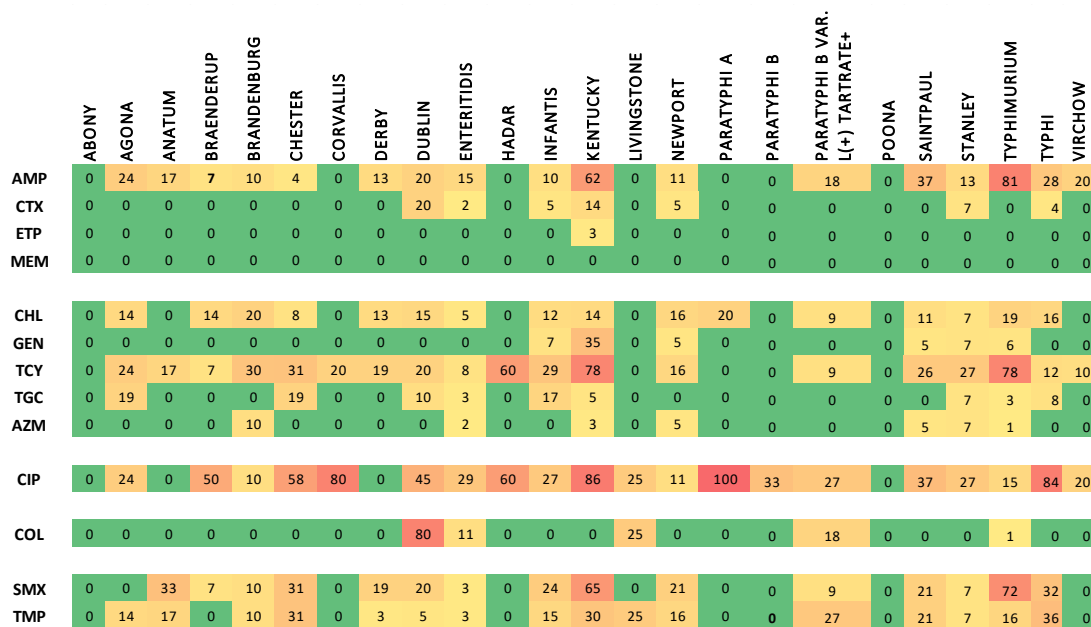


Figure 10. Carte thermique spécifique au sérovar pour la résistance aux antibiotiques (%). Voir le tableau 2 pour la signification des abréviations. Les seuils de résistance aux CHL, AZM, SMX et TGC ont été fixés à 8 µg/ml, 16 µg/ml, 256 µg/ml et 1 µg/ml, respectivement, sur la base des valeurs ECOFF.

des souches indicatrices provenant de l'alimentation et du bétail.

Troisièmement, à partir de 2023, 50 % de toutes les souches Enteritidis et Typhimurium, ainsi que tous les isolats invasifs, feront l'objet d'un suivi prospectif par WGS. Le CNR travaille à l'heure actuelle sur la validation des prédictions génotypiques des profils de résistance aux antimicrobiens sur la base de ces données.

Dans ce rapport, la multirésistance (MDR) est définie comme la résistance à plus de trois classes différentes d'antibiotiques.

En 2023, 499 souches humaines de Salmonella ont été testées pour leur sensibilité aux antibiotiques. Toutes les données sont résumées dans les tableau 7 et les figures 10-11.

Tableau 7. Aperçu du nombre de souches pour lesquelles l'antibiogramme a été déterminé, par sérovar (n>3), avec indication du pourcentage de MDR (résistant à plus de trois classes d'antibiotiques) et de souches pan-sensibles.

Serovar	N _{testé}	MDR (%)	Pan-S (%)
TYPHIMURIUM	68	25,0	8,8
ENTERITIDIS	66	3,0	54,5
INFANTIS	41	12,2	61,0
KENTUCKY	37	59,5	8,1
DERBY	31	3,2	64,5
CHESTER	26	7,7	42,3
TYPHI	25	12,0	12,0
AGONA	21	9,5	52,4
DUBLIN	20	5,0	10,0
NEWPORT	19	5,3	68,4
SAINTPAUL	19	21,1	47,4

STANLEY	15	6,7	46,7
BRAENDERUP	14	7,1	50,0
PARATYPHI B VAR. L(+)			
TARTRATE+	11	0,0	63,6
BRANDENBURG	10	10,0	60,0
VIRCHOW	10	0,0	50,0
PARATYPHI B	9	0,0	66,7
ANATUM	6	0,0	66,7
CORVALLIS	5	0,0	20,0
HADAR	5	0,0	40,0
PARATYPHI A	5	0,0	0,0
POONA	5	0,0	100,0
ABONY	4	0,0	100,0
LIVINGSTONE	4	0,0	50,0
SALMONELLA spp.	499	12,8	41,5

Les résistances les plus fréquentes étaient celles contre l'ampicilline (28%), les sulfamides (25,5%) et la tétracycline (30,3%), avec de grandes différences entre les différents sérovars (Tableau 7, Figure 11).

En 2023, un total de 12,8% des isolats belges de Salmonella testés étaient MDR (Tableau 7), soit une baisse de 0,3% par rapport à 2022. Le sérovar le plus résistant reste S. Kentucky avec 59,5% d'isolats MDR. La prévalence de la MDR dans le sérotype Typhimurium était de 25 %, soit le même niveau qu'en 2022.

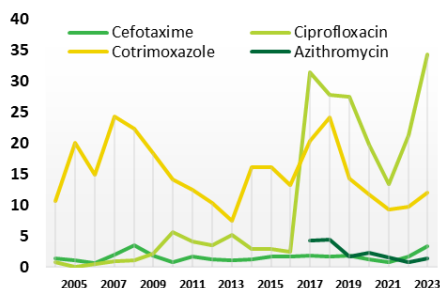


Figure 11. Évolution de la résistance (%) des *Salmonella* spp. humaines à quatre antibiotiques cliniquement importants, 2004-2023. L'augmentation pour la résistance à la Ciprofloxacine en 2017 peut s'expliquer par le passage à une nouvelle méthodologie pour les antibiogrammes, voir le texte pour plus d'explications.

La résistance individuelle la plus élevée a été mesurée chez la souche S23BD06429 de Ser. Stanley S23BD06429, insensible à 9/13 antibiotiques testés. Il est intéressant de noter que 3 souches d'Infantis ont également montré une résistance à sept antibiotiques testés.

En ce qui concerne les antibiotiques individuels, les observations suivantes ont été faites :

- Après une baisse de quatre ans (2018-2021), la résistance à la ciprofloxacine a de nouveau fortement augmenté après 2022 (Figure 10). La proportion de *Salmonella* spp faiblement résistantes ($0,06 < MIC_{50} < 2 \mu\text{g/ml}$) est passée de 11,7 % en 2021 et 17,3 % en 2022 à 26,0 % en 2023. En outre, le groupe d'isolats hautement résistants est passé de 1,5 % en 2021 et 3,8 % en 2022 à 8,2 % du total des *Salmonella* spp. testées en 2023. Alors que la résistance faible (associée à une mutation dans *GyrA*) est répandue dans de nombreux sérotypes (Figure 11), la résistance élevée (>1 mutation dans *GyrA* et *ParC*) est principalement associée aux sérotypes Kentucky et Typhi, de sorte que cette augmentation peut être directement liée à l'augmentation de la prévalence de ces sérotypes (Figure 6).
- La résistance aux macrolides a été testée depuis 2017 et reste à un niveau basal faible (<5%).
- Une résistance significative à la colistine a été observée principalement chez les sérovars O:9 Dublin et Enteritidis, qui ont une résistance inhérente plus élevée à cet antibiotique. Une résistance a également été observée dans des isolats de ser. Typhimurium (n=1), Livingstone (n=1) et Paratyphi B Var. Java (n=2)
- En 2023, un total de 17 isolats ont été identifiés avec une sensibilité réduite aux céphalosporines de 3ème génération, dont quatre isolats de *S. Dublin* (2/4 invasifs). Ces souches étaient toutes porteuses du gène blaCTX-M-32. Les autres producteurs de BLSE appartenaient aux sérovars Kentucky (n=5), Infantis (n=2), Typhi (n=1), Enteritidis (n=1), Oranienburg (n=1),

Newport (n=1), Stanley (n=1) et Bredeney (n=1). En raison de la sélection spécifique des souches pour la NGS (voir ci-dessus), tous les producteurs de BLSE n'ont pas été séquencés en 2023.

3.7. TYPAGE MLVA

En 2023, le profil de MLVA a été déterminé pour un total de 732 souches isolées de *S. enterica* serovar Enteritidis. En 2023, 103 profils MLVA différents ont été observés.

Les cinq profils les plus fréquents sont les suivants

- 2-11-7-3-2 (22.5%)
- 2-10-7-3-2 (8.3%)
- 3-9-5-4-1 (7.8%)
- 2-9-7-3-2 (7.0%)
- 2-12-7-3-2 (6.6%)

Deux groupes de profils apparentés, 3-(9/10/11)-5-4-1 d'une part et 2-(9/10/11/12)-7-3-2 d'autre part, représentent ensemble les trois quarts des salmonelloses *S. enterica* serovar Enteritidis observées. Comme expliqué dans la section 3.3.1, un lien avec l'industrie de la volaille a été démontré pour les deux types les plus fréquents.

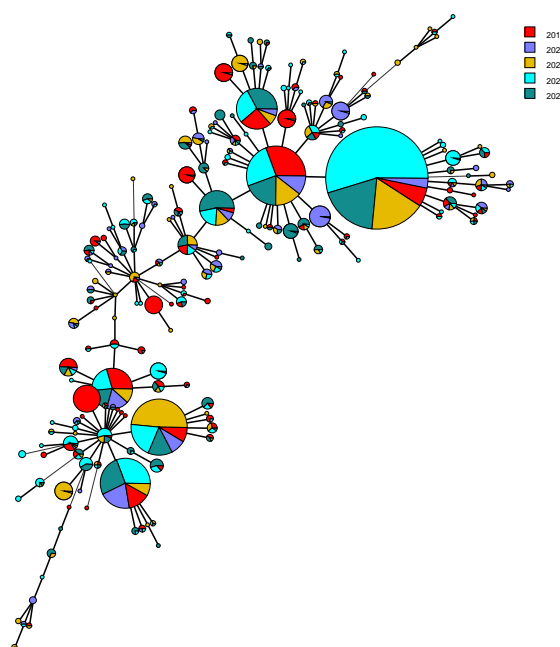


Figure 12. Résumé des analyses MLVA pour *S. enterica* serovar Enteritidis. Minimal Spanning Tree (MST) des différents profils entre 2019 et 2023.

En 2023, le profil de MLVA a été déterminé pour un total de 668 souches isolées de *S. enterica* serovar Typhimurium. 236 profils de MLVA différents ont été observés.

Les cinq principaux profils de 2023 sont les suivants :

- 3-12-9-NA-211 (5,2 %)
- 3-12-15-NA-211 (4,2 %)
- 3-13-10-NA-211 (3,4 %)
- 3-14-12-NA-211 (3,3%)
- 3-12-10-NA-211 (2,8%)

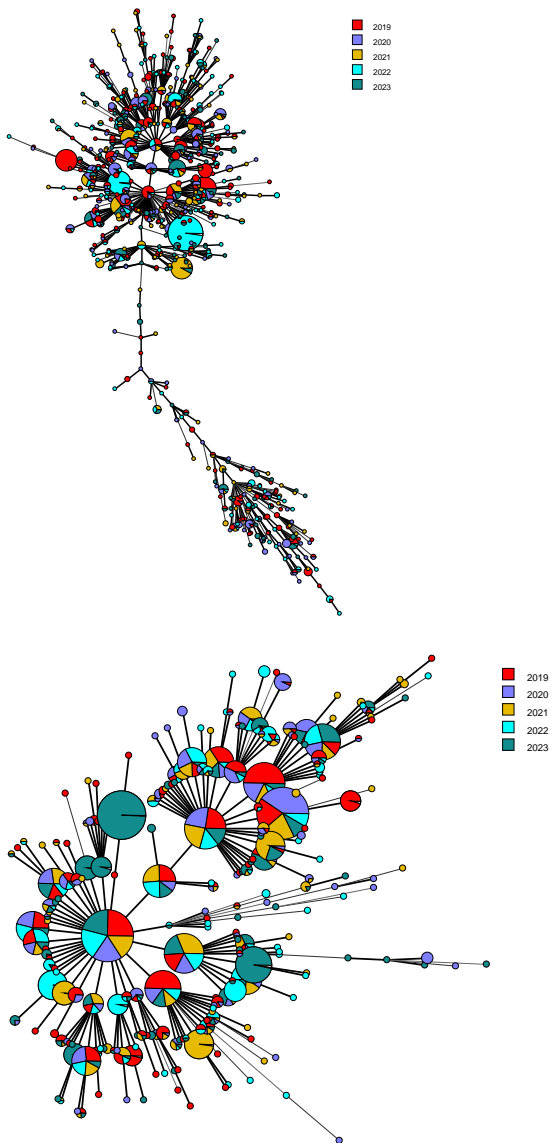


Figure 13. Aperçu des analyses MLVA pour *S. enterica* serovar Typhimurium (en haut) et *S. enterica* serovar Typhimurium monophasique (en bas). Minimal Spanning Tree (MST) des différents profils entre 2019 et 2023.

4. Research & Development (ENG)

—

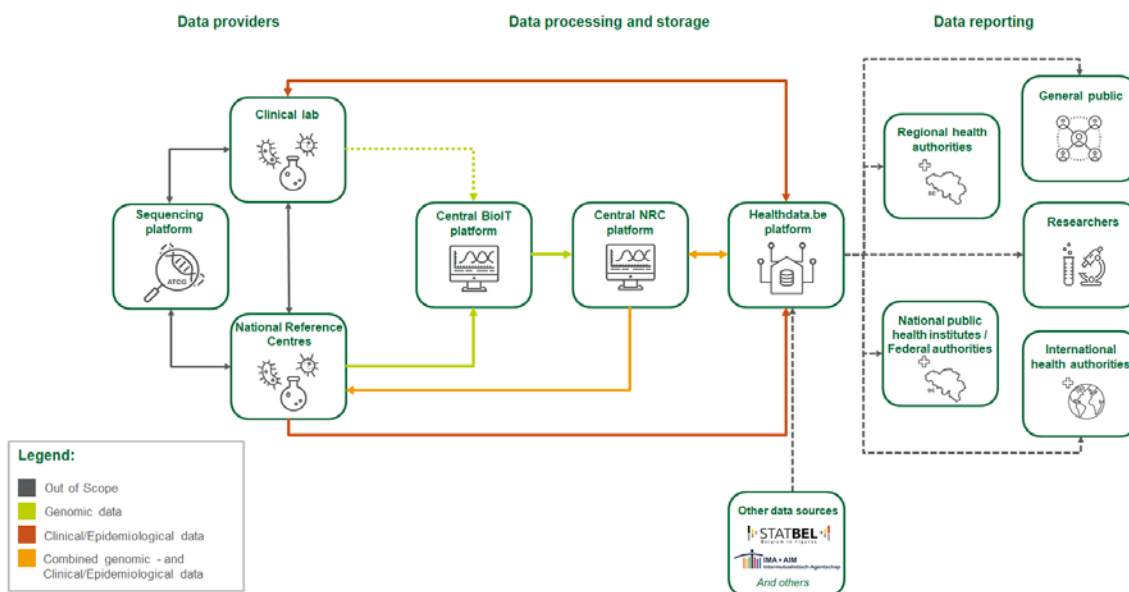
4.1 ONGOING RESEARCH PROJECTS AT THE NRC SALMONELLA

- **UNITED4Surveillance** (<https://united4surveillance.eu>) is an EU4Health Joint Action with 40 partners from all across Europe. The Joint Action started in January 2023 and will run until 31 December 2025. The Dutch National Institute for Public Health and the Environment (RIVM) is coordinating this project. The goal of this Joint Action is to assist member states and the EU in the deployment of digitalized and integrated surveillance systems, operating both at national and European level. With the aim to ensure better detection of early warning signs and more accurate risk assessment and coordinated response among the member states to any future cross-border health threats. The consortium will address the objectives of the call by:
 - Piloting solutions and sharing best practices that can be an integral part of national health systems.
 - Defining a roadmap that promotes decentralization by supporting the alignment between the Member States in the development of interoperable, reliable, and comprehensive national health systems which are key for surveillance capacity building within Europe.

To ensure the successful implementation of the proposed integrated surveillance systems, the UNITED4Surveillance consortium will be dedicated to identify current impediments to the use of electronic health data for integrated surveillance and the development of an inventory of best practices for overcoming these barriers; to strengthen capacity building through continuous professional development; and to pilot innovative strategies for integrated infectious disease surveillance to be evaluated for their public health value.

- **The HERA-BE-WGS** project (2021-2024) continues to improve the management and exchange of microbial genomic and clinical/epidemiological data by establishing an overarching national eHealth architecture, called Be-HERA. This landscape consists of a central data warehouse for data collection and storage of National Reference Centre (NRC) data (i.e. clinical, epidemiological, and classical microbiological results) and genomic microbiological results, as well as a central BioIT platform and a central NRC platform. The harmonized, standardized processing and reporting of these data types in Be-HERA facilitates the timely and efficient identification of possible new variants or other emerging infectious diseases. The current HERA initiative for infectious diseases will focus on data exchange and retrieval for reporting to various public health stakeholders. Data export is key in enabling the use of existing surveillance and visualization tools outside the healthdata.be platform and ensure national and international reporting. Additionally, there is also a need for a minimum data flow besides the microbial genomic data to the central BioIT platform, which will allow the use of genomic analysis software to perform automated cluster detection and interactive cluster exploration, preferably to be made available in the NRC platform environment at a later stage of the project. Data governance and authentication for access to data in all components of the national eHealth infrastructure is crucial, and procedures are defined in consultation with experts both within and outside Sciensano.

The concrete data architecture, its infrastructures and the data flows between these infrastructures is described below:



Epidemiological data is collected at the level of the National Reference Centers (NRCs) and sent to Healthdata.be. Genomic data will be transferred to the BioIT platform where primary processing of the results will occur. From the central BioIT platform, genomic data are sent to the central NRC platform whereby connectivity is in place with the Healthdata.be platform to combine clinical, epidemiological, and microbial genomic data within the NRC platform according to their mandates. The Healthdata.be platform covers the pseudonymized data warehouse that can be used for data reporting and research. **More information can be found [here](#)**

4.2 PEER-REVIEWED PUBLICATIONS (2022)

1. Berbers B, Vanneste K, Roosens NHCJ, Marchal K, Ceysens PJ, De Keersmaecker SCJ. **Using a combination of short- and long-read sequencing to investigate the diversity in plasmid- and chromosomally encoded extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) in clinical *Shigella* and *Salmonella* isolates in Belgium.** Microb Genom. 2023 Jan;9(1):mgen000925.

doi: 10.1099/mgen.0.000925. PMID: 36748573; PMCID: PMC9973847

[Open access here](#)

Abstract

For antimicrobial resistance (AMR) surveillance, it is important not only to detect AMR genes, but also to determine their plasmidic or chromosomal location, as this will impact their spread differently. Whole-genome sequencing (WGS) is increasingly used for AMR surveillance. However, determining the genetic context of AMR genes using only short-read sequencing is complicated. The combination with long-read sequencing offers a potential solution, as it allows hybrid assemblies. Nevertheless, its use in surveillance has so far been limited. This study aimed to demonstrate its added value for AMR surveillance based on a case study of extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs). ESBL genes have been reported to occur also on plasmids. To gain insight into the diversity and genetic context of ESBL genes detected in clinical isolates received by the Belgian National Reference Center between 2013 and 2018, 100 ESBL-producing *Shigella* and 31 ESBL-producing *Salmonella* were sequenced with MiSeq and a representative selection of 20 *Shigella* and six *Salmonella* isolates additionally with MinION technology, allowing hybrid assembly. The bla CTX-M-15 gene was found to be responsible for a rapid rise in the ESBL *Shigella* phenotype from 2017. This gene was mostly detected on multi-resistance-carrying IncFII plasmids. Based on clustering, these plasmids were determined to be distinct from the circulating plasmids before 2017. They were spread to different *Shigella* species and within *Shigella sonnei* between multiple genotypes. Another similar IncFII plasmid was detected after 2017 containing bla CTX-M-27 for which only clonal expansion occurred. Matches of up to 99 % to plasmids of various bacterial hosts from all over the world were found, but global alignments indicated that direct or recent ESBL-plasmid transfers did not

occur. It is most likely that travellers introduced these in Belgium and subsequently spread them domestically. However, a clear link to a specific country could not be made. Moreover, integration of bla CTX-M in the chromosome of two Shigella isolates was determined for the first time, and shown to be related to ISEcp1. In contrast, in Salmonella, ESBL genes were only found on plasmids, of which bla CTX-M-55 and IncHI2 were the most prevalent, respectively. No matching ESBL plasmids or cassettes were detected between clinical Shigella and Salmonella isolates. The hybrid assembly data allowed us to check the accuracy of plasmid prediction tools. MOB-suite showed the highest accuracy. However, these tools cannot replace the accuracy of long-read and hybrid assemblies. This study illustrates the added value of hybrid assemblies for AMR surveillance and shows that a strategy where even just representative isolates of a collection used for hybrid assemblies could improve international AMR surveillance as it allows plasmid tracking.

2. Cargnel M, Filippitzi ME, Van Cauteren D, Mattheus W, Botteldoorn N, Cambier L, Welby S. **Assessing evidence of a potential Salmonella transmission across the poultry food chain.** Zoonoses Public Health. 2023 Feb;70(1):22-45.

doi: 10.1111/zph.12998. Epub 2022 Sep 8. PMID: 36082435.

[Open access here](#)

Abstract

Enhanced Salmonella surveillance programmes in poultry were implemented in all European Member States, with minimum prevalence targets for a list of targeted serotypes to safeguard food and public health. Based on the Belgian Salmonella surveillance programme and focusing on poultry, the overarching aim of this study was to highlight possible Salmonella transmissions across the food chain (FC). For this purpose, firstly, the prevalence patterns of Salmonella (targeted and the most prevalent non-targeted) serotypes along the FC were described over time. Secondly, the effectiveness of the control measures against vertical transmission (breeders to 1-day-old broiler and layer chicks) was indirectly assessed by looking into the odds of targeted serotypes detection. Thirdly, it was appraised if Salmonella prevalence can significantly increase during broilers and layers production. In addition, it was tested if being tested negative at the end of production in broilers when tested positive at the entrance is serotype dependent (targeted vs. non-targeted serotypes). Results showed that, firstly, the prevalence patterns of the listed serotypes were inconstant over time and across the FC. Secondly, the odds of Salmonella targeted serotype detection in 1-day-old broiler and in 1-day-old layer flocks were lower than in breeder flocks while, thirdly, infection during broiler and layer production can lead to significant increase in positivity in subsequent samples. Finally, being infected by a targeted or by non-targeted serotype at the entrance of the flock poorly reflects the Salmonella status at the end of production. Note that this study did not make a distinction between the different sources of contamination and the effects of sampling methods and isolation methods should be subject to further investigation.

3. Diasi CN, Ceysens PJ, Vodolazkaia A, Mukovnikova M, Dorval S, Bauraind O, Mattheus W. **Salmonella Durban meningitis: case report and genomics study.** BMC Infect Dis. 2023 May 20;23(1):338.

doi: 10.1186/s12879-023-08308-7. PMID: 37210495; PMCID: PMC10199540.

[Open access here](#)

Abstract

Background: Bacterial meningitis caused by non-typhoid Salmonella can be a fatal condition which is more common in low and middle-income countries.

Case presentation: We report the case of a Salmonella meningitis in a Belgian six-month old male infant. The first clinical examination was reassuring, but after a few hours, his general state deteriorated. A blood test and a lumbar puncture were therefore performed. The cerebrospinal fluid analysis was compatible with a bacterial meningitis which was later identified by the NRC (National Reference Center) as Salmonella enterica serovar Durban.

Conclusions: In this paper, we present the clinical presentation, genomic typing, and probable sources of infection for an unusually rare serovar of Salmonella. Through an extended genomic analysis, we established its relationship to historical cases with links to Guinea.

4. Mbuyi-Kalonji L, Hardy L, Mbuyamba J, Phoba MF, Nkoji G, Mattheus W, Im J, Marks F, Jeon HJ, Jacobs J, Lunguya O. **Invasive non-typhoidal *Salmonella* from stool samples of healthy human carriers are genetically similar to blood culture isolates: a report from the Democratic Republic of the Congo.** *Front Microbiol.* 2023 Nov 24;14:1282894.

doi: 10.3389/fmicb.2023.1282894. PMID: 38075852; PMCID: PMC10704266.

[Open Access here](#)

Abstract

Invasive non-typhoidal *Salmonella* (iNTS) (serotypes Typhimurium and Enteritidis) are major causes of bloodstream infections in sub-Saharan Africa, but their reservoir is unknown. Aiming to demonstrate human carriers as a reservoir, we assessed an iNTS disease endemic rural community (Kikonka health area, Democratic Republic of the Congo) for intestinal carriage of iNTS. After a census, healthy subjects from randomly selected households provided three successive stool samples for *Salmonella* culture. We next compared the stool isolates for genetic relatedness with time and health area-matched blood culture isolates obtained from hospitalized patients by multiple locus variable-number tandem repeat analysis (MLVA) and performed whole genome sequencing (WGS) on a subset of stool and blood isolates. Among 2,354 eligible subjects, 2,234 (94.9%) consented and provided at least one stool sample, and 2,219 (94.3%) provided three stool samples. The cumulative proportion of *Salmonella* carriers after 3 days was 4.4% (n = 98). *S. Typhimurium* and Enteritidis were found in 26 and 3 carriers, respectively, representing 1.3% (29 out of 2,234) of participants living in 6.0% (26 out of 482) of households. MLVA types of all 26 *S. Typhimurium* stool isolates matched with the corresponding MLVA types of blood isolates. The MLVA type of one out of three Enteritidis stool isolates matched the single MLVA type of the five Enteritidis blood isolates. WGS analysis of *S. Typhimurium* (n = 20) and *S. Enteritidis* (n = 4) isolates revealed Typhimurium multilocus sequence type (ST)313 Lineage 2 and Enteritidis ST11 Central/Eastern African and Outlier clades and confirmed the MLVA clustering. More than three-quarters of Typhimurium isolates showed combined multidrug resistance, ceftriaxone resistance, and fluoroquinolone non-susceptibility. In conclusion, the present study demonstrated iNTS carriage among healthy community members, with stool isolates that were genetically similar to blood culture isolates obtained in patients from the same community. These findings contribute to the evidence of a human reservoir of iNTS.

5. Cuypers WL, Meysman P, Weill FX, Hendriksen RS, Beyene G, Wain J, Nair S, Chattaway MA, Perez-Sepulveda BM, Ceysens PJ, de Block T, Lee WWY, Pardos de la Gandara M, Kornschober C, Moran-Gilad J, Veldman KT, Cormican M, Torpdahl M, Fields PI, Černý T, Hardy L, Tack B, Mellor KC, Thomson N, Dougan G, Deborggraeve S, Jacobs J, Laukens K, Van Puyvelde S. **A global genomic analysis of *Salmonella* Concord reveals lineages with high antimicrobial resistance in Ethiopia.** *Nat Commun.* 2023 Jun 14;14(1):3517.

doi: 10.1038/s41467-023-38902-x. PMID: 37316492; PMCID: PMC10267216.

[Open access here](#)

Abstract

Invasive non-typhoidal *Salmonella* (iNTS) (serotypes Typhimurium and Enteritidis) are major causes of bloodstream infections in sub-Saharan Africa, but their reservoir is unknown. Aiming to demonstrate human carriers as a reservoir, we assessed an iNTS disease endemic rural community (Kikonka health area, Democratic Republic of the Congo) for intestinal carriage of iNTS. After a census, healthy subjects from randomly selected households provided three successive stool samples for *Salmonella* culture. We next compared the stool isolates for genetic relatedness with time and health area-matched blood culture isolates obtained from hospitalized patients by multiple locus variable-number tandem repeat analysis (MLVA) and performed whole genome sequencing (WGS) on a subset of stool and blood isolates. Among 2,354 eligible subjects, 2,234 (94.9%) consented and provided at least one stool sample, and 2,219 (94.3%) provided three stool samples. The cumulative proportion of *Salmonella* carriers after 3 days was 4.4% (n = 98). *S. Typhimurium* and Enteritidis were found in 26 and 3 carriers, respectively, representing 1.3% (29 out of 2,234) of participants living in 6.0% (26 out of 482) of households. MLVA types of all 26 *S. Typhimurium* stool isolates matched with the corresponding MLVA types of blood isolates. The MLVA type of one out of three Enteritidis stool isolates matched the single MLVA type of the five Enteritidis blood isolates. WGS analysis of *S. Typhimurium* (n = 20) and *S. Enteritidis* (n = 4) isolates revealed Typhimurium multilocus sequence type (ST)313 Lineage 2 and Enteritidis ST11 Central/Eastern African and Outlier clades and confirmed the MLVA clustering. More than three-quarters of Typhimurium isolates showed combined multidrug resistance, ceftriaxone resistance, and fluoroquinolone non-susceptibility. In conclusion, the

present study demonstrated iNTS carriage among healthy community members, with stool isolates that were genetically similar to blood culture isolates obtained in patients from the same community. These findings contribute to the evidence of a human reservoir of iNTS.

6. De Hert E, Baïli S, Vanden Driessche M, Jansens H, Vandamme S, Jacquemyn Y, Vodolazkaia A, Mukovnikova M, Mattheus W, Matheeussen V. **Genital Infection Caused by *Salmonella enterica* Serovar Hvittingfoss: A Case Report.** Pathogens. 2023 Nov 5;12(11):1316.

doi: 10.3390/pathogens12111316. PMID: 38003781; PMCID: PMC10674701.

[open access here](#)

Abstract

Background: Nontyphoidal *Salmonella* serovars predominantly cause gastrointestinal infections. However, other clinical presentations, including urogenital infections, have been reported, although they are rather rare.

Case presentation: This case is about a 33-year-old woman diagnosed with *Salmonella enterica* serovar Hvittingfoss (S. Hvittingfoss) bacteremia and endometritis six days post uterine aspiration in the context of a missed abortion. She had traveled to Indonesia two weeks prior to the positive blood and cervical culture. She never developed gastrointestinal symptoms but was found to carry S. Hvittingfoss in her stool sample. The patient was successfully treated with a seven-day course of iv ciprofloxacin.

Conclusions: S. Hvittingfoss is a rare serovar that has caused a few outbreaks of foodborne infections in Asia, the United States, and Australia. To the best of our knowledge, this is the first reported case of *Salmonella* urogenital infection caused by this serovar. *Salmonella* as a cause of urogenital infections is rare but not uncommon. Therefore, it should be considered in identifying members of the *Enterobacterales* among urogenital flora in cases of severe urogenital infections, especially when other cultures remain negative.

7. Falay D, Hardy L, Bonebe E, Mattheus W, Ngbonda D, Lunguya O, Jacobs J. **Intestinal carriage of invasive non-typhoidal *Salmonella* among household members of children with *Salmonella* bloodstream infection, Kisangani, DR Congo.** Front Microbiol. 2023 Oct 12;14:1241961.

doi: 10.3389/fmicb.2023.1241961. PMID: 37901802; PMCID: PMC10602682.

[Open access here](#)

Abstract

Introduction: Invasive non-typhoidal *Salmonella* (iNTS), mainly *Salmonella* Typhimurium and *Salmonella* Enteritidis, causes a severe burden in sub-Saharan Africa; however, its reservoir (animal or environmental) is unclear. The present study assessed healthy household members of index patients for intestinal carriage of *Salmonella*.

Methods: Index patients were admitted to the University Hospital of Kisangani (DR Congo), and *Salmonella* was grown from blood cultures. Household members were asked to provide three stool samples for culture for *Salmonella*. *Salmonella* Typhimurium and S. Enteritidis isolates from index patients, and household members were assessed for genetic relatedness using the multiple-locus variable number of tandem repeat analysis (MLVA), and the multilocus sequence type (ST) was determined by whole genome sequencing.

Results: Between May 2016 and January 2020, 22 households were visited. The index patient serotypes were Typhimurium, Enteritidis, Typhi, and Paratyphi C; II:42:r:-; and I:7:y:- ($n = 8, 7, 5,$ and each 1, respectively). The median (range) delay between the index patient and household sampling was 25 days (2 days to 7.3 months); 203 household members provided at least one stool sample. In all, 15 (7.3%) *Salmonella* carriers were found in nine of 22 households. For one index patient, the household comprised S. Typhimurium in four household members, including the index patient, sampled 27 days after bloodstream infection; the MLVA types of these five isolates were similar. They belonged to ST313 lineage 2 and were closely related [0-1 allelic distance (AD) among the stool isolates and eight AD with the blood culture isolate]. In another household, the stool culture of the index patient (obtained 67 days after bloodstream infection) grew S. Enteritidis of the same MLVA type; both isolates belonged to the ST11 Central/Eastern African clade and were closely related (three AD).

Discussion: The present study provides evidence of household clustering of S. Typhimurium ST313 and intestinal carriage of iNTS several weeks after bloodstream infection.

8. Van Puyvelde S, de Block T, Sridhar S, Bawn M, Kingsley RA, Ingelbeen B, Beale MA, Barbé B, Jeon HJ, Mbuyi-Kalonji L, Phoba MF, Falay D, Martiny D, Vandenberg O, Affolabi D, Rutanga JP, Ceysens PJ, Mattheus W, Cuypers WL, van der Sande MAB, Park SE, Kariuki S, Otieno K, Lusingu JPA, Mbwana JR, Adjei S, Sarfo A, Agyei SO, Asante KP, Otieno W, Otieno L, Tahita MC, Lompo P, Hoffman IF, Mvalo T, Msefula C, Hassan-Hanga F, Obaro S, Mackenzie G, Deborggraeve S, Feasey N, Marks F, MacLennan CA, Thomson NR, Jacobs J, Dougan G, Kariuki S, Lunguya O. **A genomic appraisal of invasive *Salmonella* Typhimurium and associated antibiotic resistance in sub-Saharan Africa.** *Nat Commun.* 2023 Oct 23;14(1):6392.

doi: 10.1038/s41467-023-41152-6. PMID: 37872141; PMCID: PMC10593746.

[Open access here](#)

Abstract

Invasive non-typhoidal *Salmonella* (iNTS) disease manifesting as bloodstream infection with high mortality is responsible for a huge public health burden in sub-Saharan Africa. *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (*S. Typhimurium*) is the main cause of iNTS disease in Africa. By analysing whole genome sequence data from 1303 *S. Typhimurium* isolates originating from 19 African countries and isolated between 1979 and 2017, here we show a thorough scaled appraisal of the population structure of iNTS disease caused by *S. Typhimurium* across many of Africa's most impacted countries. At least six invasive *S. Typhimurium* clades have already emerged, with ST313 lineage 2 or ST313-L2 driving the current pandemic. ST313-L2 likely emerged in the Democratic Republic of Congo around 1980 and further spread in the mid 1990s. We observed plasmid-borne as well as chromosomally encoded fluoroquinolone resistance underlying emergences of extensive-drug and pan-drug resistance. Our work provides an overview of the evolution of invasive *S. Typhimurium* disease, and can be exploited to target control measures.

CONTACT

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

QUESTIONS, REMARQUES OU
PLUS D'INFORMATIONS:

WWW.SCIENSANO.BE