

# CENTRE NATIONAL DE RÉFÉRENCE SHIGELLA

Rapport annuel 2023

—

**Sciensano**  
**Maladies infectieuses humaines - Maladies bactériennes**  
**CNR Salmonella & Shigella**

Juillet 2024 • 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:



Veillez citer comme suit: Centre National de Référence pour Salmonella en Shigella, 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

- En 2023, le CNR *Shigella* a typé 515 souches uniques de *Shigella*, soit une augmentation de 68 % par rapport à l'année post-pandémique 2022, qui avait enregistré un nombre record de souches. Par rapport à la moyenne quinquennale (pandémie comprise), le nombre de shigelloses a fortement augmenté au cours du second semestre 2023.
- La distinction entre les infections à *Shigella* et à *E. coli* reste difficile pour les laboratoires cliniques, même si une amélioration est visible, vraisemblablement grâce à l'introduction de panels moléculaires. En 2023, 13,6 % de tous les échantillons transmis n'étaient pas des *Shigella* spp. mais des *E. coli* commensaux.
- Comme les années précédentes, l'incidence la plus élevée de shigellose en 2023 a été observée chez les hommes âgés de 25 à 44 ans. En 2023, on observe une légère diminution de la proportion d'échantillons provenant de patients masculins (ratio H/F de 1,43 contre 1,64 en 2022). En 2022, le CNR *Shigella* a typé 307 souches uniques de *Shigella*, soit une augmentation de 35 % par rapport à l'année pandémique 2021, les niveaux pré-coronariens se rapprochant lentement. En effet, entre le début du premier confinement (mars 2020) et août 2021, une forte diminution du nombre de shigelloses a été observée. Par rapport à la prévalence pré-corona, le pic automnal de 2022 a été moins prononcé.
- Alors qu'en 2020, le nombre d'isolats de *S. sonnei* a diminué à 52, cette année, *S. sonnei* représentait 78% (401/515) du nombre total de shigelloses en Belgique, ce qui est un niveau record pour cette espèce. Il est intéressant de noter que, contrairement à *S. sonnei*, le nombre absolu d'échantillons de *S. flexneri* n'a guère été affecté par les mesures prises autour du COVID-19. Même après la pandémie, ces nombres restent stables, ce qui, bien sûr, réduit proportionnellement la prévalence des sérotypes de *S. flexneri*. Les sérotypes les plus prévalents restent *S. flexneri* 2a (7,8 % vs 14,1 % en 2021, et 7,5 % en 2019) et *S. flexneri* 1b (4,7 % vs 8,1 % en 2021).
- Depuis 2023, toutes les *Shigella* spp. confirmées ont fait l'objet d'une analyse prospective par WGS, ce qui a permis un suivi détaillé de différents groupes clonaux. 14 clusters (définis comme >4 isolats avec <8 allèles de différence dans une période de 6 mois) ont été détectés et suivis (tableau 3). Le CNR a notamment enquêté sur 4 grappes internationales de *S. sonnei* et *S. flexneri* 2a XDR liées à des hommes homosexuels, ainsi que sur une grave épidémie de *S. sonnei* dans un restaurant de Flandre-Occidentale en septembre.
- En 2023, 73 cas (14,2 %) ont été signalés comme étant liés à des voyages, soit trois fois plus qu'en 2021, atteignant à nouveau le niveau pré-coronarien (16,8 % en 2019). Parmi ces échantillons liés aux voyages, 27% étaient originaires du Maroc.
- D'ici 2023, 39 % des souches de *Shigella* seront multirésistantes (résistance à plus de trois classes d'antibiotiques). Bien que ce chiffre soit stable par rapport à l'année dernière, une nette tendance à la multirésistance est visible. À titre de comparaison, en 2016, le nombre de souches de *Shigella* MDR n'était que de 13,1 %.
- Une observation très frappante chez *S. sonnei* est la forte augmentation de la résistance aux antibiotiques indicateurs de la production de BLSE (céfotaxime et/ou ceftazidime), de 15 % avant la pandémie à 43 % en 2023. Cette augmentation est principalement due à la forte circulation des gènes blaCTX-M-15 (n=138) et blaCTX-M-27 (n=35) codés par des plasmides dans des souches spécifiques de la flambée. Ces souches sont également porteuses des gènes qnrB19 et mphA, qui entraînent une résistance à la ciprofloxacine et aux macrolides, respectivement.
- Le profil de résistance de *S. flexneri* se caractérise par une résistance élevée et croissante aux anciens antibiotiques que sont l'ampicilline, le chloramphénicol, le cotrimoxazole et la tétracycline. La résistance à l'azithromycine a fortement augmenté ces dernières années, mais a diminué chez *S. flexneri* 1b (50 %, 2a (37,8 %) et *S. flexneri* 3a/b (69 %) d'ici 2023. La résistance à la ciprofloxacine n'est un problème que chez *S. flexneri* 2a, où un taux record (78,4 %) a été mesuré en 2023. L'augmentation de la résistance aux céphalosporines de troisième génération, tant chez *S. flexneri* 1b (31,8 %) que chez *S. flexneri* 2a (27 %), est également remarquable.
- Il n'y avait pas ou presque pas d'insensibilité à la gentamicine, à la colistine et aux carbapénèmes.
- Le CNR a publié deux articles évalués par des pairs en 2023.

# 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	6
2.4 flux de travail du CNR	6
2.5 Résistance aux antibiotiques	7
2.6 Séquençage du génome entier	7
● 3. RESULTATS	8
3.1 Collection de souches: nombre & origine	8
3.2 Répartition en fonction des âges et du sexe	8
3.3. Distribution des especes et sérovars	9
3.4. Répartition géographique	9
3.5. Infections liées au voyage	11
3.6. Résistance aux antibiotiques	11
● 4. RESEARCH & DEVELOPMENT (ENG)	14
4.1 Peer-reviewed publications (2022)	14

# 1. INTRODUCTION

## 1.1. OBJECTIF

La mission principale du Centre national de référence pour les Shigella (CNRC) est d'assurer la surveillance épidémiologique des infections humaines à Shigella. Cette surveillance vise à détecter les épidémies le plus rapidement possible, ainsi que leurs origines, et à évaluer les tendances spatiales et temporelles à long terme de l'évolution de ce germe. Depuis 2023, les Shigella spp. font l'objet d'une surveillance prospective par séquençage du génome entier (WGS). Le NRCS surveille également la sensibilité aux antibiotiques des germes isolés.

En cas de suspicion d'épidémie, le CNR alerte les inspecteurs de santé des trois régions (AVIQ, DGS et Vivalis.Bruxelles) qui prennent alors les mesures nécessaires pour enquêter sur les patients. Cette surveillance permet de suivre les épidémies, d'élaborer des mesures de prévention et de prendre/déterminer des mesures au bénéfice de la santé publique.

Chaque mois, toutes les données de sous-typage sont transférées au système national de surveillance EpiStat et 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 sont accessibles aux inspecteurs sanitaires des Communautés, au réseau de laboratoires et de centres de référence à l'adresse <https://www.sciensano.be/en/national-reference-centres-human-microbiology> et à l'adresse <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 shigellose est définie comme une infection humaine pour laquelle *Shigella* est isolé.

### 2.2 COLLECTIONS DES SOUCHES ET MÉTADONNÉES

Tout isolement de souches de *Shigella* provenant de laboratoires cliniques est envoyé au CNRS 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.

À la réception, chaque échantillon se voit attribuer un numéro unique, sous la forme S23BD0000x, et les métadonnées enregistrées sont entrées numériquement dans le système STARLIMS. L'échantillon est conservé après analyse dans 20% de glycérol à -80°C.

En Flandre, les shigelloses sont signalées aux inspecteurs de la santé via le CNRS, contrairement à la Wallonie et à Bruxelles.

### 2.3 TAXONOMIE

Le genre *Shigella* appartient à la famille des *Enterobacteriaceae* et comprend quatre espèces: *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii* et *S. sonnei*. L'identification de ces 4 espèces est basée sur les propriétés biochimiques et les caractéristiques antigéniques.

Chaque espèce est subdivisée en sérovars sur la base d'un facteur O caractéristique; ces sérovars sont indiqués par des chiffres arabes (parfois suivis d'une lettre ou simplement d'une lettre dans certaines variantes de *S. flexneri*).

### 2.4 FLUX DE TRAVAIL DU CNR

Le flux de travail du CNR *Shigella* est donné dans Figure 1. Après purification de la souche avec agar XLD, Le sérotype d'une *Shigella* est également déterminé sur la base d'antigènes O somatiques (Denka Seiken CO, UK) en utilisant le Triple Sugar Iron Agar (TSI, Biotrading, NL). Des tests biochimiques supplémentaires sont aussi effectués

pour confirmer l'identification et différencier les différentes espèces et variétés.

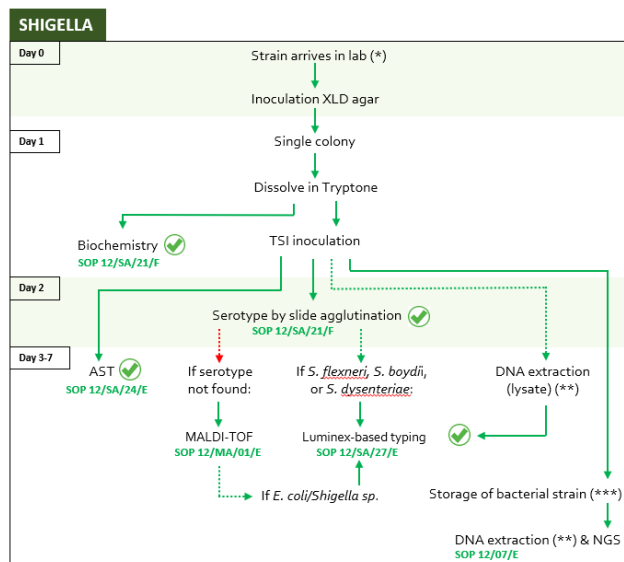


Figure 1. Flux de travail au CNR *Shigella*, 2023. Les résultats des tests comportant une coche sont communiqués au laboratoire qui les a soumis. AST, antibiogramme ; WGS, séquençage du génome entier.

Afin de distinguer *Shigella* spp. et *E. coli* entéroinvasive, le CNR a développé un test multiplex basé sur des billes Luminex xTAG (Figure 2) en 2019, dans lequel des marqueurs génétiques spécifiques sont étudiés et qui permettent de faire cette distinction. Cette méthode est également capable de distinguer les sérotypes *Sonnei* et *Flexneri*. Depuis 2022, ce test est accrédité par BELAC.

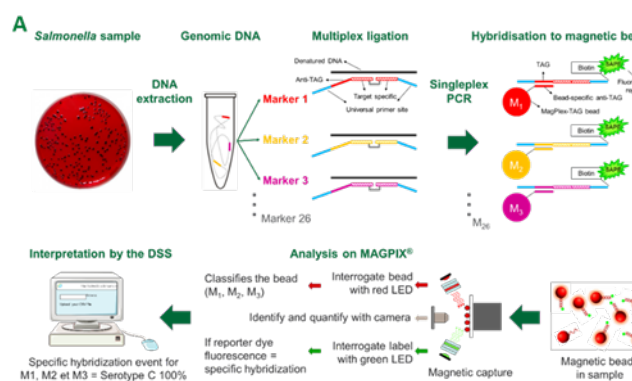


Figure 2. Représentation schématique du Luminex à base de multiplex. Pour une représentation exacte des sondes et des cibles, nous renvoyons à Ventola *et al*<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Ventola E, et al. Microbiologyopen. 2019 Aug;8(8):e00807.

## 2.5 RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

Le CNR teste la sensibilité aux antibiotiques des tous les souches de *Shigella* réceptionnées.

Depuis 2017, l'antibiogramme est établi par microdilution en bouillon (Sensititre™, Thermo Fisher), la valeur de la concentration minimale inhibitrice (CMI) étant déterminée pour chaque antibiotique. Les valeurs de CMI sont interprétées conformément aux recommandations d'EUCAST.

Dans le présent rapport, la multirésistance aux médicaments est définie comme résistant à plus de trois classes d'antibiotiques.

**Table 2.** Antibiotiques testés par microdilution en bouillon

Antibiotique	CODE	Conc. Testée (mg/L)	Point limite de sensibilité (mg/L) <sup>1,3</sup>
AMPICILLINE IV	AMP	1-64	8.0
AZYTHROMYCINE <sup>2</sup>	AZI	2-64	ND
CEFOTAXIME	FOT	0.25-4	1.0
CEFTAZIDIME	TAZ	0.5-8	1.0
CHLORAMPHENICOL	CHL	8-64	ND
CIPROFLOXACINE	CIP	0.015-8	0.25
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

1 ND, non déterminé

2 L'azithromycine a été utilisée dans le traitement des infections intestinales, principalement chez les espèces *Shigella* et *Salmonella* Typhi. Bien que la distribution de type sauvage puisse varier légèrement, il est probable que les isolats dont les CMI sont supérieures à 16 µg/mL présentent un mécanisme de résistance à l'azithromycine.

3 Conformément à l'EUCAST, les résultats concernant les souches non résistantes aux aminoglycosides et à la colistine doivent être mis entre parenthèses. Les commentaires suivants doivent être ajoutés au rapport : "cet antibiotique ne doit pas être utilisé en monothérapie pour les infections systémiques sans mesures thérapeutiques supplémentaires".

## 2.6 SÉQUENÇAGE DU GÉNOME ENTIER

Depuis 2023, les souches de *Shigella* font l'objet d'une étude prospective par séquençage de nouvelle génération (NGS). Dans ce cas, l'ADN génomique est extrait à l'aide du MgC Bacterial DNA Kit™ avec un volume d'élution de 200 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. Une description

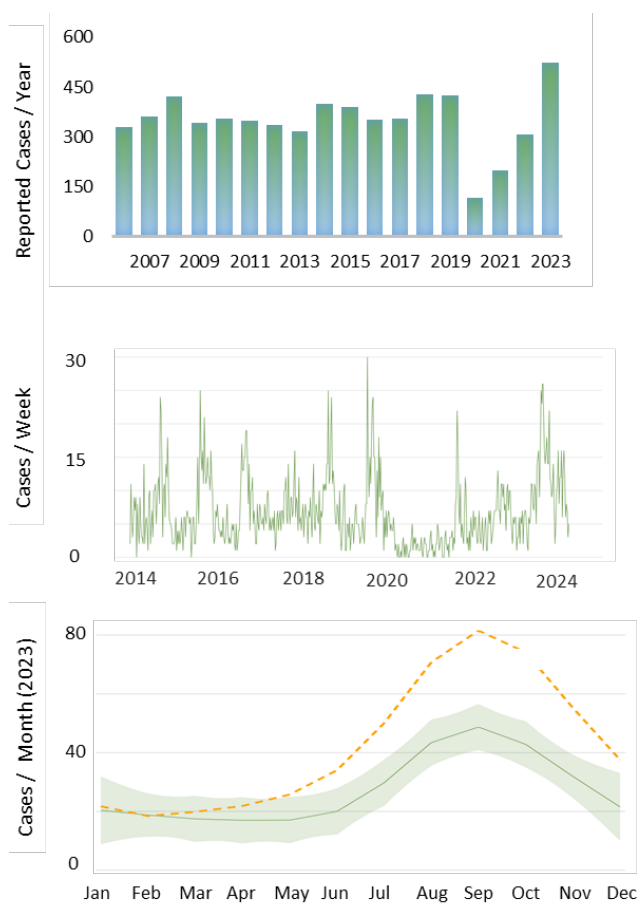
<sup>2</sup> Bogaerts B, et al. *Microorganisms*. 2021 Apr 6;9(4):767.

détaillée du flux de travail *in silico* pour *Shigella* est décrite dans Bogaerts B., et al. (2021) *Microorganisms*.<sup>2</sup>

## 3. RESULTATS

### 3.1 COLLECTION DE SOUCHES: NOMBRE & ORIGINE

Au cours de l'année écoulée, le CNR a procédé au typage d'isolats de *Shigella* pour le compte de 91 laboratoires cliniques. À partir de ces échantillons, le CNR a identifié **515 souches uniques de *Shigella***, soit une augmentation de 68 % par rapport à l'année postpandémique 2022, atteignant ainsi un nombre record de soumissions (Figure 3). Comme le montre la figure 3, une forte diminution du nombre de shigelloses a été observée entre le début du premier confinement (mars 2020) et août 2021. Par rapport à la moyenne quinquennale (pandémie comprise), le nombre de shigelloses a fortement augmenté au cours du second semestre 2023 (figure 3, au milieu et en bas).



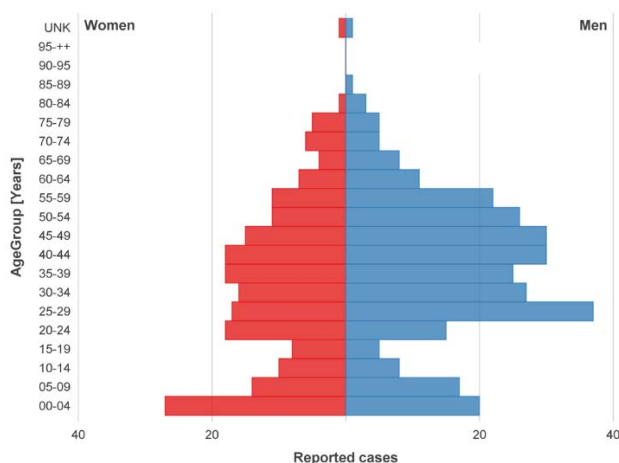
**Figure 3.** En haut. Nombre total de *Shigella* spp. confirmées ayant fait l'objet d'une enquête auprès du CNR, par année, pour la période 2006-2023. Au milieu. Résumé des Shigelloses signalées chaque semaine pour la période 2014-2023. En bas. Aperçu des shigelloses mensuelles déclarées en 2023 (orange), par rapport à la moyenne quinquennale (gris). La zone verte représente l'intervalle de confiance à 95 %.

Sur un total de 601 souches reçues pour typage, les tests biochimiques et moléculaires (Kligler-Hajna, uréase, MALDI-TOF) et/ou l'absence d'agglutination lors du sérotypage ont montré que 13,6% (82/601) n'étaient pas des *Shigella* spp, ce qui représente une proportion plus faible de faux positifs par rapport à 2022 (19,6%). En utilisant une méthode multiplex Luminex récemment développée, qui a reçu l'accréditation BELAC en 2022, il a été constaté que la majorité de ces souches étaient des souches d'*E. coli* non entéroinvasives.

Parmi les souches reçues, 0,5 % ne présentaient plus de croissance. La grande majorité des souches de *Shigella* confirmées (510/515, 99%) ont été isolées à partir de matières fécales, bien qu'une souche ait également été isolée à partir de sang (0,2%). Pour 4/515 des souches, le spécimen était inconnu.

### 3.2 RÉPARTITION EN FONCTION DES ÂGES ET DU SEXE

Comme les années précédentes, en 2023, l'incidence la plus élevée de shigellose a été observée chez les hommes âgés de 25 à 44 ans (Figure 4). En 2023, la proportion d'échantillons provenant de patients masculins a légèrement diminué (**rapport H/F de 1,43** contre 1,64 en 2022 et 1,9 en 2021). Comme le montre la figure 4, cet écart M/V est entièrement dû à la surreprésentation des souches provenant d'hommes adultes âgés de 20 à 59 ans.



**Figure 4.** Pyramide des âges générée pour les infections confirmées à *Shigella*, période 2023.



### 3.3. DISTRIBUTION DES ESPECES ET SÉROVARS

La proportion des différentes espèces de *Shigella* est résumée dans le tableau 2 et la figure 5. Comme le montre la figure 5, la distribution des espèces de *Shigella* a été particulièrement stable en Belgique pendant plus de deux décennies. En 2020, cependant, le nombre de *S. sonnei* a fortement chuté pour atteindre seulement 52 souches. Cela s'explique probablement en partie par les voyages et en partie par la transmission sexuelle de ce pathogène. À partir de septembre 2021, le nombre d'infections à *S. sonnei* a de nouveau augmenté, en partie en raison de nouvelles épidémies internationales chez les hommes homosexuels (HSH), et en partie en raison de la levée des restrictions Covid. En 2023, les infections à *S. sonnei* ont atteint un niveau record, représentant 77,8% (401/515) du nombre total de shigelloses en Belgique.

Le nombre de souches de *S. boydii*, typiquement associées aux voyages en Inde, était faible (0,7%, 4/515), tout comme le nombre d'isolats de *S. dysenteriae* (0,7%, 4/515).

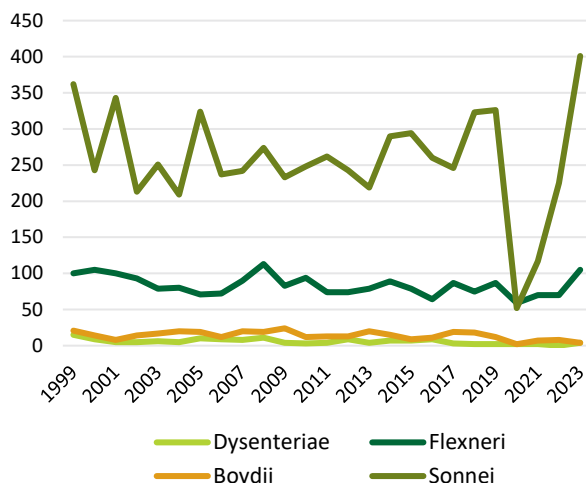


Figure 5. Evolution du nombre absolu de souches de *Shigella* uniques analysées au CNR, 1999-2023.

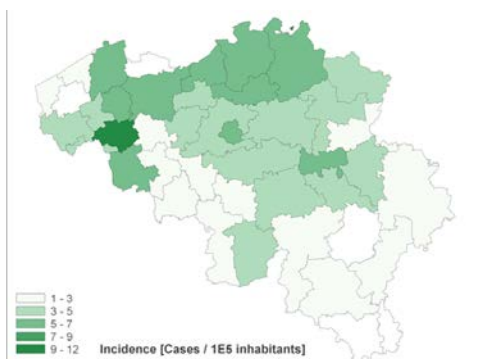
Une observation frappante pendant la pandémie est que la prévalence de *S. flexneri* (20,3 %, 105/515) dépendait beaucoup moins des mesures Covid (figure 5, tableau 2), les nombres absolus restant plus ou moins aux niveaux pré-pandémiques. Après la pandémie également, ces chiffres restent stables, ce qui, proportionnellement, réduit bien sûr la prévalence des sérotypes de *S. flexneri*. Les sérotypes les plus prévalents restent *S. flexneri* 2a (7,8 % vs 14,1 % en 2021, et 7,5 % en 2019) et *S. flexneri* 1b (4,7 % vs 8,1 % en 2021).

Tableau 2. Aperçu des différents sérotypes identifiés, période 2021-2023.

Sérotype	2021		2022		2023	
	N	%	N	%	N	%
<b>Sonnei</b>	117	59,1	225	73,3	401	77,8
2a	28	14,1	19	6,2	40	7,8
1b	16	8,1	17	5,5	24	4,7
3b	11	5,5	9	2,9	8	1,6
6	5	2,5	7	2,3	9	1,7
3a	4	2,0	3	1,0	8	1,6
4	1	0,5	5	1,6	2	0,4
Y	1	0,5	0	0,0	1	0,2
<b>Flexneri</b>	5	1	0	0,0	1	0,2
1A	0	0,0	1	0,3	0	0,0
1	0	0,0	0	0,0	0	0,0
7	0	0,0	0	0,0	0	0,0
2b	0	0,0	0	0,0	2	0,4
4a	0	0,0	0	0,0	1	0,2
x	0	0,0	1	0,3	0	0,0
UNK	3	1,5	8	2,6	5	1,0
2	1	0,5	3	1,0	1	0,2
4	1	0,5	3	1,0	1	0,2
5	0	0,0	0	0,0	0	0,0
8	1	0,5	0	0,0	0	0,0
<b>Boydii</b>	9	0	0	0	1	0,2
10	0	0,0	0	0,0	1	0,2
11	1	0,5	1	0,3	0	0,0
12	1	0,5	0	0,0	0	0,0
14	1	0,5	0	0,0	0	0,0
17	1	0,5	0	0,0	0	0,0
UNK	0	0,0	1	0,3	0	0,0
<b>Dysenteriae</b>	1	0	0	0,0	0	0,0
2	0	0,0	0	0,0	1	0,2
4	1	0,5	0	0,0	1	0,2
7	0	0,0	0	0,0	1	0,2
12	1	0,5	0	0,0	1	0,2
<b>Untypable</b>					1	0,2
<b>TOTALE</b>					<b>515</b>	<b>100</b>

### 3.4. RÉPARTITION GÉOGRAPHIQUE

La figure 6 donne un aperçu de la répartition géographique des shigelloses humaines. En 2023, la majorité des souches (63,9%) provenaient de Flandre ; les patients wallons et bruxellois représentaient respectivement 19,2% et 12,2% des souches. Pour 24 souches (4,6 %), le lieu de résidence n'était pas renseigné. Cette répartition entre les régions est similaire à celle des années précédentes. Par arondissement, les incidences les plus élevées en 2023 ont été mesurées à Kortrijk (11,9 cas/100 000 habitants), Anvers (6,8 cas/100 000 habitants) et Bruges (6,4 cas/100 000 habitants).



**Figure 6.** Incidence des infections humaines totales à *Shigella* par arrondissement (2023), sur la base du nombre de cas confirmés par le CNR. Représentés pour 100 000 habitants.

Depuis 2023, toutes les *Shigella* spp. confirmées ont fait l'objet d'un suivi prospectif par WGS, ce qui a permis une surveillance détaillée des différents groupes clonaux. 14 clusters (définis comme >4 isolats avec <8 allèles de différence en 6 mois) ont été détectés et suivis. Toutes les souches (historiques et successives) qui se regroupent également sont incluses dans l'analyse (tableau 3).

Quatre clusters internationaux liés aux HSH sont liés à deux alertes EpiPulse : 2023-EIP-0023 et 2023-FWD-00037.

- L'alerte EpiPulse 2023-EIP-0023 décrit (i) le cluster Sonnei\_2020\_alpha avec *S. sonnei* (n=35 en 2023) résistant aux céphalosporines de 3ème génération, aux macrolides et aux fluoroquinolones, avec un pic durant les mois d'été et une distribution géographique sur

Anvers, Courtrai, Bruxelles et Liège, et (ii) deux groupes clonaux de *S. flexneri* 2a XDR (2023\_alpha et 2023\_beta), avec 9 et 5 isolats en 2023.

- L'alerte 2023-FWD-00037 (Sonnei\_2023\_kappa) comprend un groupe de souches XDR de *S. sonnei* (n=35 en 2023) qui sont réparties internationalement et ont été signalées aux Pays-Bas, au Danemark, en Suède, en Irlande et en Allemagne, entre autres. Le regroupement géographique à Gand, Kortrijk, Namur et Liège est remarquable.

Les groupes nationaux les plus importants sont les suivants :

- Le groupe Sonnei\_2023\_gamma comprend 12 souches de *S. sonnei*, dont 10/12 ont été isolées chez des enfants de moins de 10 ans, tous originaires de la région d'Anvers. Une enquête sur les sources n'a révélé aucun lien avec la communauté juive, et la dernière infection a été identifiée en octobre 2023.
- Le cluster Sonnei\_2023\_zeta est un clone de *S. sonnei* qui circule activement dans la communauté des HSH (Figure 7). Cependant, en septembre 2023, une vaste épidémie a été observée en Flandre occidentale, liée à un incident de contagion dans un restaurant. Au total, 23 souches apparentées ont été reçues par le CNR. L'enquête sur l'épidémie, menée en collaboration avec le Département des soins et le FAVV, a conduit à la fermeture temporaire de la cuisine et au suivi des employés du restaurant.

**Tableau 3.** Les clusters de *Shigella* en 2023.

Cluster <sup>1</sup>	EPIS <sup>2</sup>	MSM <sup>3</sup>	Travel	Isolates <sup>4</sup>	AMR <sup>5</sup>			
					CSP	CIP	AZM	Cotrim
Sonnei_2020_alpha	ARH-00002 / 2023-EIP-00023	YES		92				
sonnei_2022_alpha	2022-FWD-00088	NO	Capo Verde	11				
Sonnei_2022_beta	2022-FWD-00092	NO	Tunesia	18				
Sonnei_2023_kappa	2023-FWD-00037	YES		36				
Flexneri_2023_alpha	2023-EIP-00023-1	YES		9				
Flexneri_2023_beta	2023-EIP-00023-2	YES		12				
Sonnei_2019_alpha	NA	NO		92				
Sonnei_2021_alpha	NA	NO		14				
Sonnei_2023_alpha	NA	YES		8				
Sonnei_2023_beta	NA	NO	Egypt	25				
Sonnei_2023_gamma	NA	NO		12				
Sonnei_2023_delta	NA	NO		7				
Sonnei_2023_epsilon	NA	NO		26				
Sonnei_2023_zeta	NA	YES		53				

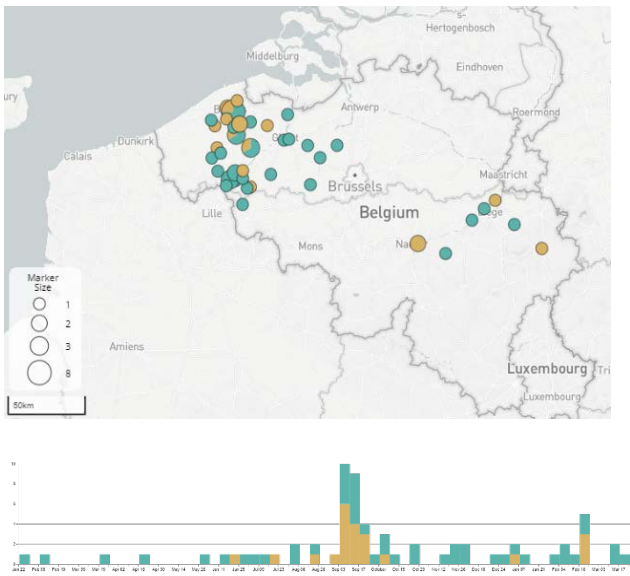
<sup>1</sup> Les groupes ont été nommés d'après l'année de leur première apparition.

<sup>2</sup> NA, pas d'alerte internationale au moment de la rédaction.

<sup>3</sup> Basé sur un rapport M/V >3

<sup>4</sup> Nombre d'isolats appartenant à ce groupe au 31/12/2023.

<sup>5</sup> La résistance antimicrobienne aux céphalosporines (CSP), à la ciprofloxacine (CIP), à l'azithromycine (AZM) et au cotrimoxazole (Cotrim) est indiquée en rouge, la sensibilité à une exposition accrue (I) est indiquée en jaune.



**Figure 7.** Vue d'ensemble du cluster Sonnei\_2023\_zeta avec des indications entre 02/2023 et 03/2024. Les patients masculins et féminins sont respectivement en vert et en jaune. Le pic de septembre 2023 est clairement visible.

### 3.5. INFECTIONS LIÉES AU VOYAGE

En 2023, 73 cas (14,1 %) ont été signalés comme étant liés à des voyages, soit un niveau similaire à celui de 2022 (15,6 %), le niveau pré-corona (16,8 % en 2019) étant à nouveau atteint. Il convient de noter que 19 cas liés à des voyages ont été signalés au Maroc. Une vue d'ensemble des cas liés aux voyages est présentée dans le tableau 4.

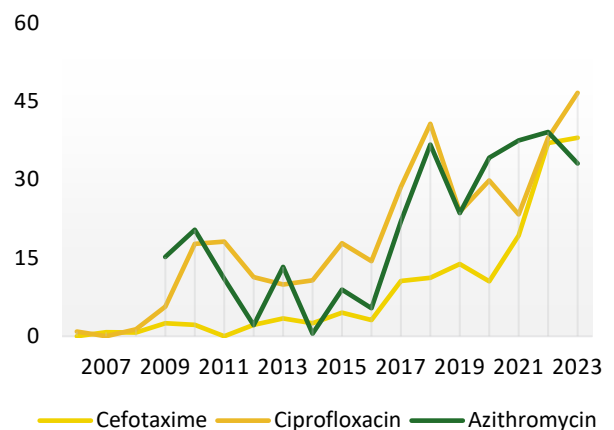
**Tableau 4.** Souches de *Shigella* liées à un récent séjour à l'étranger, 2023.

	Sérotype	N
Marocco	<i>S. sonnei</i>	16
	<i>S. flexneri 2a</i>	2
	<i>S. boydii 6</i>	1
Egypt	<i>S. sonnei</i>	6
India	<i>S. flexneri 2a</i>	2
	<i>S. sonnei</i>	4
Senegal	<i>S. flexneri 1b</i>	1
	<i>S. flexneri 2b</i>	1
	<i>S. sonnei</i>	2
Spain	<i>S. sonnei</i>	3
	<i>S. flexneri 1b</i>	1
Brazil	untypable	1
Tunesia	<i>S. sonnei</i>	3
Madagascar	<i>S. boydii 6</i>	1
	<i>S. sonnei</i>	2
Rwanda	<i>S. flexneri 2a</i>	1
	<i>S. sonnei</i>	1
Jordan	<i>S. sonnei</i>	2
Thailand	<i>S. flexneri 2a</i>	1
	<i>S. sonnei</i>	1
Indonesia	<i>S. sonnei</i>	2
Costa Rica	<i>S. flexneri 2a</i>	1

	<i>S. sonnei</i>	1
Saudi Arabia	<i>S. sonnei</i>	2
Guatemala	<i>S. sonnei</i>	1
Georgia	<i>S. flexneri 2a</i>	1
United Kingdom	<i>S. flexneri 3b</i>	1
Guinea	<i>S. flexneri 2a</i>	1
Vietnam	<i>S. sonnei</i>	1
Cape Verde	<i>S. flexneri</i>	1
Greece	<i>S. sonnei</i>	1
Tanzania	<i>S. flexneri 1b</i>	1
Turkey	<i>S. sonnei</i>	1
Togo	<i>S. flexneri</i>	1
Guadeloupe	<i>S. sonnei</i>	1
Congo	<i>S. sonnei</i>	1
Uganda	<i>S. flexneri 2b</i>	1
Nicaragua	<i>S. sonnei</i>	1
Pakistan	<i>S. sonnei</i>	1
Brazil	<i>S. sonnei</i>	1
Mexico	<i>S. flexneri</i>	1

### 3.6. RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

Le traitement de la shigellose consiste en une réhydratation et un traitement antibiotique. Les antibiotiques assurent généralement une guérison rapide sans séquelles. À l'origine, un grand nombre d'antibiotiques pourraient être utilisés efficacement pour le traitement de la shigellose. En pratique, toutefois, le spectre d'antibiotiques utilisables diminue d'année en année en raison d'une augmentation de la résistance aux antibiotiques. Les antibiotiques tétracycline, ampicilline et co-trimoxazole qui ont été utilisés comme premier choix dans les années 1990 ne sont plus efficaces à l'heure actuelle.



**Figure 7.** Evolution de la résistance (%) de *Shigella* spp. contre trois antibiotiques cliniquement importants, 2006-2023.

Actuellement, les antibiotiques recommandés pour le traitement de la shigellose sont similaires à ceux de la salmonellose, à savoir la ciprofloxacine (500 mg), la ceftriaxone (1g IV) ou l'azithromycine. Cependant, une résistance croissante dans le monde entier à la

ciprofloxacine et à l'azithromycine a été rapportée récemment, principalement chez *S. sonnei* et *S. flexneri* 3a, respectivement. En conséquence, une surveillance constante de la résistance aux antibiotiques est nécessaire au niveau national. Cette surveillance a été effectuée occasionnellement dans le passé, mais depuis 2004, le CNRS surveille la sensibilité aux antimicrobiens des souches isolées.

Depuis 2017, le CNR a adopté la méthode de microdilution en bouillon avec les mêmes plaques Sensititre™ que celles décrites pour *Salmonella* (Tableau 1). Grâce à cette méthode, l'antibiogramme a été déterminé pour 487/515 isolats uniques et confirmés de *Shigella*. Les tendances générales sont représentées dans les figures 7 et tableau 5.

Dans ce rapport, la multirésistance (MDR) est définie comme la résistance à plus de 3 classes d'antibiotiques. En 2022, ce chiffre est resté stable à **43,4%**, bien qu'une nette tendance à la multirésistance ait été observée ces dernières années. À titre de comparaison, en 2016, le nombre de souches de *Shigella* MDR n'était que de 13,1%. Seuls 2,5% des échantillons étaient sensibles à tous les antibiotiques testés.

**Table 5.** Résistance globale (%) de *Shigella* spp. en Belgique, période 2021-2023.

Classe	Antibiotique	2021	2022	2023
<i>B-lactams</i>	AMPICILLINE	56,3	59,9	54,4
	CEFOTAXIME	19,2	37,0	38,0
	CEFTAZIDIME	17,8	29,3	29,4
	MEROPENEM	0,0	0,0	0,0
	ERTAPENEM	0,0	0,0	0,0
<i>Protein synthesis inhibitors</i>	CHLORAMPHENICOL	-	-	-
	GENTAMICINE	1,5	1,7	0,6
	TETRACYCLINE	85,3	71,4	71,4
	TIGECYCLINE	-	-	-
	AZITHROMYCINE	-	-	-
<i>Gyrase inhibitors</i>	CIPROFLOXACINE	23,3	38,0	46,6
<i>Cell wall inhibitor</i>	COLISTINE	0,0	0,3	0,2
<i>Folate Synthesis</i>	SULFAMETHOXAZOLE	-	-	-
	TRIMETHOPRIM	89,3	92,3	91,8

Le fort pic de résistance à la ciprofloxacine et à l'azithromycine en 2018 (Figure 7) était lié à une forte augmentation des souches de *S. sonnei* hautement résistantes dans la population des MSM. Nous aimerions renvoyer le lecteur intéressé à notre étude rétrospective récemment publiée (2013-2019) sur l'augmentation de la résistance à la ciprofloxacine et à l'azithromycine dans *S. sonnei*<sup>3</sup>.

<sup>3</sup> Fischer N, Maex M, Mattheus W, Van den Bossche A, Van Cauteren D, Laisnez V, Hammami N, Ceyssens PJ. Genomic epidemiology of persistently circulating MDR *Shigella sonnei* strains associated with men

Alors que la résistance chez *S. boydii* et *S. dysenteriae* est rare, nous observons des tendances différentes dans les autres sérotypes.

Une observation très frappante chez *S. sonnei* (Figure 8) est la forte augmentation de la résistance aux antibiotiques indicateurs de la production de BLSE (céfotaxime et/ou ceftazidime), qui est passée de 15 % avant la pandémie à 43% en 2023. Cette augmentation est très frappante et est principalement due à la forte circulation de bla<sub>CTX-M-27</sub> et bla<sub>CTX-M-15</sub> codée par le plasmide dans la souche du foyer avec le génotype 3.6.1.1.2 (voir section 3.4). Cette souche est également porteuse des gènes qnrB19 et mphA, qui entraînent une résistance à la ciprofloxacine et aux macrolides, respectivement.

La résistance à la ciprofloxacine est également élevée chez *S. sonnei* (49,5 % en 2023), avec 134/388 (34,5 %) souches hautement résistantes à cet antibiotique (MIC<sub>CIP</sub> ≥ 4 µg/mL). Il s'agit d'une augmentation par rapport à l'année dernière. Les niveaux de résistance sont stables pour l'azithromycine (MIC<sub>AZM</sub> ≥ 16 mg/L) à 32%, et sont causés par les gènes mdf(A), mph(A) et erm(B). En général, les isolats de *S. sonnei* sont résistants à la tétracycline et au cotrimoxazole (Figure 8).

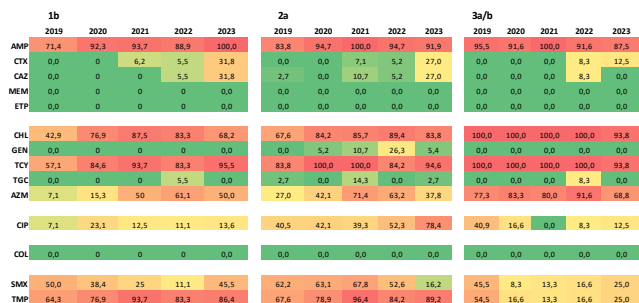
	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023
AMP	35,7	61,4	43,5	59,6	36,4	50,2	47,4
CTX	13,3	14,1	17,4	21,1	29,7	47,5	43,0
CAZ	10,6	9,9	12,9	19,2	27,1	37,5	32,6
MEM	0	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
ETP	0	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
CHL	3,5	9	1,9	9,6	5,9	6,8	4,2
GEN	2	7,2	0,6	1,9	0,0	0,0	0,3
TCY	69,4	85,6	73,5	76,9	81,3	65,1	81,3
TGC	3,5	10,9	5,7	3,8	3,4	2,2	1,6
AZM	23,1	42	20,8	32,6	27,9	34,8	32,3
CIP	27,5	46,7	22,1	34,6	26,2	39,3	49,5
COL	0,4	0,6	0,6	0,0	0,0	0,4	0,3
SMX	70,2	87,1	79,2	92,3	88,1	77,8	85,7
TMP	98,4	97,5	98,7	94,2	100,0	98,2	98,4

**Figure 8.** Carte thermique de la résistance aux antibiotiques (%) chez *S. sonnei* (2017-2023). 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. Voir le tableau 1 pour la signification des abréviations des différents antibiotiques.

Le profil de résistance de *S. flexneri* (Figure 9) se caractérise par une résistance élevée et croissante aux anciens antibiotiques que sont l'ampicilline, le chloramphénicol et la tétracycline, mais pas aux céphalosporines (7.4%). La résistance à l'azithromycine a fortement augmenté ces dernières années, mais a diminué en 2023 chez *S. flexneri* 1b (50%), 2a (37,8%) et *S. flexneri* 3a/b (69%). La résistance à la ciprofloxacine n'est un problème que chez *S.*

who have sex with men (MSM) in Belgium (2013-19). J Antimicrob Chemother. 2021 Dec 24;77(1):89-97.

*flexneri* 2a, où un taux record (78,4 %) a été mesuré en 2023. Il convient également de noter l'augmentation de la résistance aux céphalosporines de troisième génération, tant chez *S. flexneri* 1b (31,8 %) que 2a (27 %).



**Figure 9.** Carte thermique pour la résistance aux antibiotiques (%) chez *S. flexneri* 1b, 2a et 3a/b (2019-2023). 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. Voir le tableau 1 pour la signification des abréviations des différents antibiotiques.

Pour toutes les *Shigella* spp., il n'y avait aucune ou presque aucune insensibilité à la colistine et aux carbapénèmes.

## 4. Research & Development (ENG)

### 4.1 PEER-REVIEWED PUBLICATIONS (2022)

#### The evolution and international spread of extensively drug resistant *Shigella sonnei*.

Mason LCE, Greig DR, Cowley LA, Partridge SR, Martinez E, Blackwell GA, Chong CE, De Silva PM, Bengtsson RJ, Draper JL, Ginn AN, Sandaradura I, Sim EM, Iredell JR, Sintchenko V, Ingle DJ, Howden BP, Lefèvre S, Njamkepo E, Weill FX, Ceyskens PJ, Jenkins C, Baker KS.

Nat Commun. 2023 Apr 8;14(1):1983.

#### ABSTRACT

*Shigella sonnei* causes shigellosis, a severe gastrointestinal illness that is sexually transmissible among men who have sex with men (MSM). Multidrug resistance in *S. sonnei* is common including against World Health Organisation recommended treatment options, azithromycin, and ciprofloxacin. Recently, an MSM-associated outbreak of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing, extensively drug resistant *S. sonnei* was reported in the United Kingdom. Here, we aimed to identify the genetic basis, evolutionary history, and international dissemination of the outbreak strain. Our genomic epidemiological analyses of 3,304 isolates from the United Kingdom, Australia, Belgium, France, and the United States of America revealed an internationally connected outbreak with a most recent common ancestor in 2018 carrying a low-fitness cost resistance plasmid, previously observed in travel associated sublineages of *S. flexneri*. Our results highlight the persistent threat of horizontally transmitted antimicrobial resistance and the value of continuing to work towards early and open international sharing of genomic surveillance data.

[Open access to the paper](#)

#### 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.

Berbers B, Vanneste K, Roosens NHCJ, Marchal K, Ceyskens PJ, De Keersmaecker SCJ.

Microb Genom. 2023 Jan;9(1):mgen000925.

#### 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.

## CONTACT

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

QUESTIONS, REMARQUES OU  
PLUS D'INFORMATIONS:

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

Sciensano • Rue Juliette Wytsman 14 • 1050 Bruxelles • Belgique • T + 32 2 642 51 11 • T pers + 32 2 642 54 20 • info@sciensano.be  
• [www.sciensano.be](http://www.sciensano.be)

Editeur responsable : Myriam Sneyers, Directeur général • Rue Juliette Wytsman 14 • 1050 Bruxelles • Belgique •