

CENTRE NATIONAL DE RÉFÉRENCE SHIGELLA

Rapport annuel 2024

—

Sciensano
Maladies infectieuses humaines - Maladies bactériennes
CNR Salmonella & Shigella

Juillet 2025 • 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



Veuillez 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 2024, le CNR Shigella a typé **510 souches uniques** de *Shigella*, un nombre stable par rapport à 2023 (n=515) où un nombre record de soumissions avait été atteint. Par rapport à la moyenne quinquennale (pandémie comprise), le nombre de shigelloses a fortement augmenté au cours du second semestre 2024.
- La distinction entre les infections à *Shigella* et à *E. coli* reste difficile pour les laboratoires cliniques, malgré l'introduction de panels moléculaires. En 2024, 17,1 % 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 2024 a été observée chez les hommes âgés de 25 à 44 ans. En 2024, on observe une légère augmentation de la proportion d'échantillons provenant de patients masculins (**ratio H/F de 1,71** contre 1,43 en 2023).
- Alors qu'en 2020, le nombre d'isolats de *S. sonnei* a diminué à 52, cette année, cet espèce représentait 66% (336/510) du nombre total de shigelloses en Belgique. 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, mais en 2024, la proportion d'infections à *S. flexneri* a **remarquablement augmenté**, passant de 20 % en 2023 à **31,2 %** (159/510). Les sérotypes les plus répandus restent *S. flexneri* 2a (11,2% en 2024 vs. 7,8% en 2023) et *S. flexneri* 1b (8,8% en 2024 vs. 4,7% en 2023).
- 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. 15 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 **clusters internationales de *S. sonnei* et *S. flexneri* 2a XDR** liées à des hommes homosexuels.
- En 2024, 65 cas (13 %) 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, 16 souches étaient originaires du Maroc.
- D'ici 2024, 45 % 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 **44 % en 2024**. Cette augmentation est principalement due à la forte circulation des gènes bla_{CTX-M-15} et bla_{CTX-M-27} codés par des plasmides. Ces souches sont également porteuses des gènes qnrB19 et mphA, qui entraînent une résistance à la ciprofloxacine et aux macrolides, respectivement. La résistance à la ciprofloxacine a aussi fortement augmenté (43.6% in 2024) with 132/335 (39.4%) avec uw MIC_{CIP} >4 µg/mL.
- 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 augmenté significativement ces dernières années, mais a diminué en 2024 chez *S. flexneri* 3a/b (47 %). La résistance à la ciprofloxacine ne pose problème que chez *S. flexneri* 2a, où un niveau record (89 %) a de nouveau été mesuré en 2024. Le niveau croissant de résistance aux céphalosporines de 3e génération (CTX et CAZ), tant chez *S. flexneri* 1b que 2a, est également frappant. Il est principalement lié au gène bla_{CTX-M-27} dans les souches XDR circulantes de *S. flexneri* chez les HSH.
- Il n'y avait pas ou presque pas d'insensibilité à la gentamicine, à la colistine et aux carbapénèmes.
- En 2024, le NRC a publié un article évalué par des pairs sur la future mise en œuvre du séquençage Oxford Nanopore.

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	9
3.3. Distribution des especes et sérovars	9
3.4. Répartition géographique	10
3.5. Infections liées au voyage	11
3.6. Résistance aux antibiotiques	12
● 4. RESEARCH & DEVELOPMENT (ENG)	15
4.1 Peer-reviewed publications (2024)	15

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://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 S24BD0000x, 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.

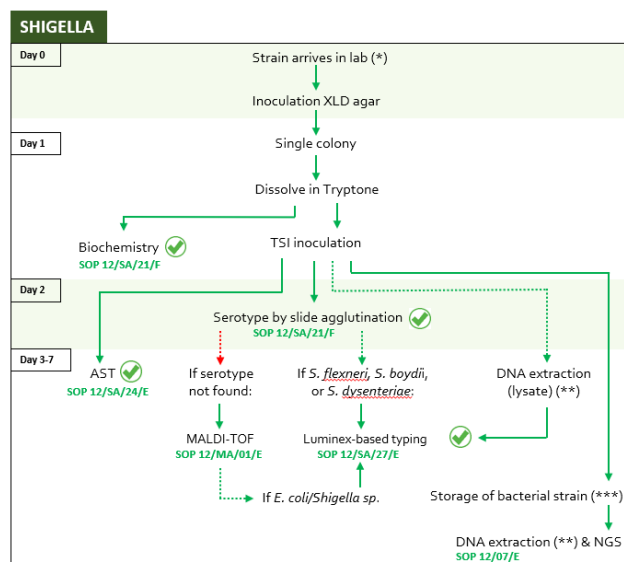


Figure 1. Flux de travail au CNR *Shigella*, 2024. Les résultats des tests comportant une coche sont communiqués au laboratoire qui les a soumis. AST, antibiogramme ; WGS, séquençage du génome entier.

Afin de distinguer *Shigella* spp. et *E. coli* enteroinvasive, 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.

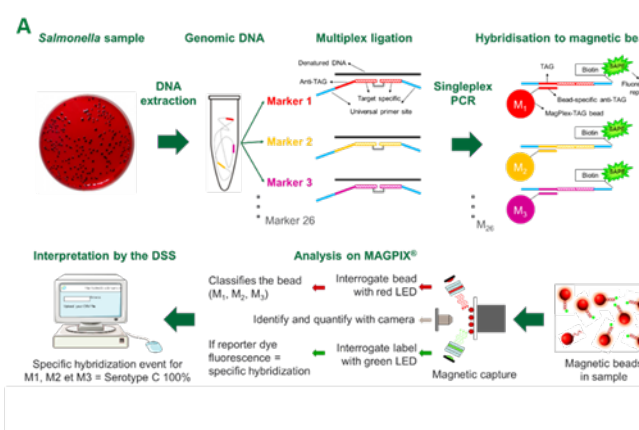


Figure 2. Représentation schématique du Luminex à base de multiplex. Pour une représentation exacte des sondes et des cibles, nous renvoyons à Ventola *et al*¹.

¹ 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 Clinical Breakpoint Table v.14.0. Dans la méningite, l'EUCAST recommande des concentrations critiques cliniques de 0,125 µg/mL, 1 µg/mL et 2 µg/mL pour la ciprofloxacine, le céfotaxime et le méropénème, respectivement.

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) ^{1,3}
AMPICILLINE IV	AMP	1-64	8.0
AZITHROMYCINE ²	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 détaillée du flux de travail *in silico* pour *Shigella* est décrite dans Bogaerts B., et al. (2021) *Microorganisms*² et disponible à [https://galaxy-tag.sciensano.be/?tool_id=pipeline_shigella_1.2&version=latest](https://galaxy.tag.sciensano.be/?tool_id=pipeline_shigella_1.2&version=latest). Le clustering phylogénétique est effectué dans BioNumerics 8.1 et la distribution géographique est visualisée avec MicroReact.

Figure 3. Pipeline bioinformatique pour l'analyse des *Shigella* spp. humaines.

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

3. RESULTATS

3.1 COLLECTION DE SOUCHES: NOMBRE & ORIGINE

Au cours de l'année écoulée, le NRC a typé des isolats de *Shigella* pour le compte de 59 laboratoires cliniques, ce qui représente une diminution de 35 % par rapport à 2024. À partir de ces échantillons, le NRC a identifié **510 souches uniques de *Shigella***, un nombre stable par rapport à 2023 (n = 515) où un nombre record de soumissions avait été atteint (Figure 4). Comme le montre la Figure 4, une forte diminution du nombre de cas de Shigellose a été observée entre le début du premier confinement (mars 2020) et août 2021. Par rapport à la moyenne quinquennale (y compris la pandémie), on a constaté une augmentation marquée du nombre de cas de Shigellose au cours du premier semestre 2024 (Figure 4, milieu et bas).

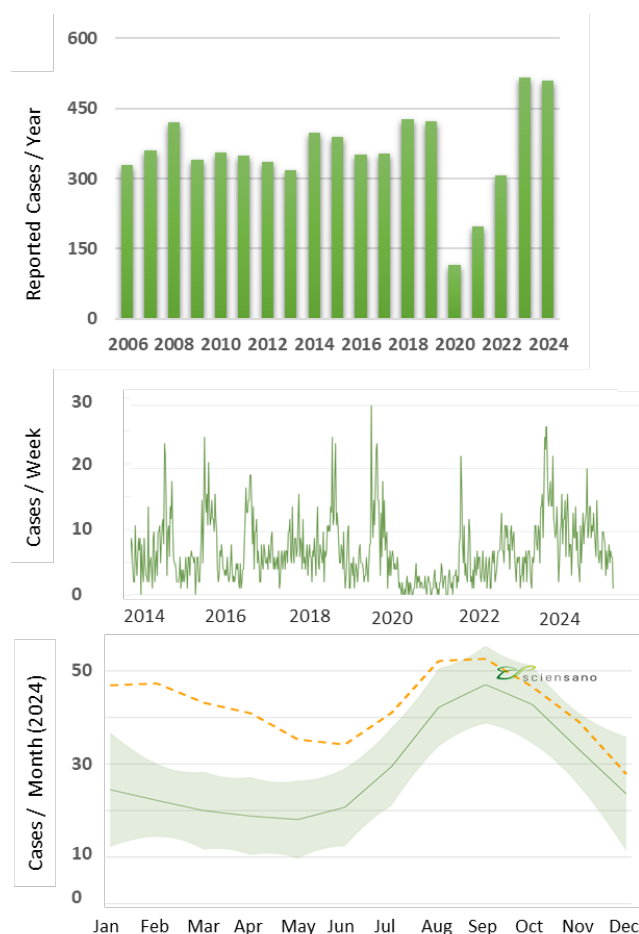


Figure 4. En haut. Nombre total de *Shigella* spp. confirmées ayant fait l'objet d'une enquête auprès du CNR, par année, pour la période 2006-2024. **Au milieu.** Résumé des Shigelloses signalées chaque semaine pour la période 2014-2024. **En bas.** Aperçu des

shigelloses mensuelles déclarées en 2023 (orange), par rapport à la moyenne quinquennale (gris). La zone verte représente l'intervalle de confiance à 95 %.

Le Résumé hospitalier minimum (RHM) est un système d'enregistrement anonymisé de données administratives, médicales et infirmières relatives à toutes les hospitalisations et auquel tous les hôpitaux non psychiatriques de Belgique sont tenus de contribuer. Les maladies sont codées selon la Classification internationale des maladies, 10e version (ICD-10). Les données présentées montrent le nombre annuel de personnes hospitalisées pour lesquelles le diagnostic primaire³ était une Shigellose, et ils sont stable (2016-2023) avec environ 17% des cas hospitalisés (Figure 5).

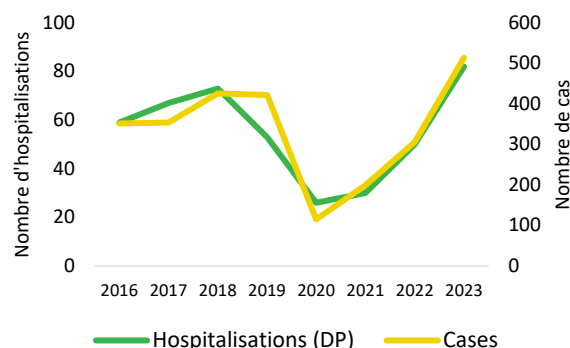


Figure 5. Nombre de cas de *Shigella* rapportés par le NRC et nombre d'hospitalisations pour une shigellose (diagnostic primaire)

Sur un total de 630 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 **17,1%** (108/630) n'étaient pas des *Shigella* spp, ce qui représente une proportion plus grande de faux positifs par rapport à 2023 (13%). 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, 1,7 % ne présentaient plus de croissance. La grande majorité des souches de *Shigella* confirmées (505/510, **98%**) ont été isolées à partir de **matières fécales**, bien que cinq souches aient également été isolées à partir de sang (1%). Pour 4/510 des souches, le spécimen était inconnu.

³ Le diagnostic primaire est l'affection principalement responsable de l'admission du patient pour une prise en charge à l'hôpital

3.2 RÉPARTITION EN FONCTION DES ÂGES ET DU SEXE

Comme les années précédentes, en 2024, l'incidence la plus élevée de shigellose a été observée chez les hommes âgés de 25 à 44 ans (Figure 6). En 2024, la proportion d'échantillons provenant de patients masculins a légèrement augmentée (**rapport H/F de 1,71** contre 1,43 en 2023). Comme le montre la figure 5, cet écart M/V est entièrement dû à la surreprésentation des souches provenant d'hommes adultes âgés de 20 à 59 ans.

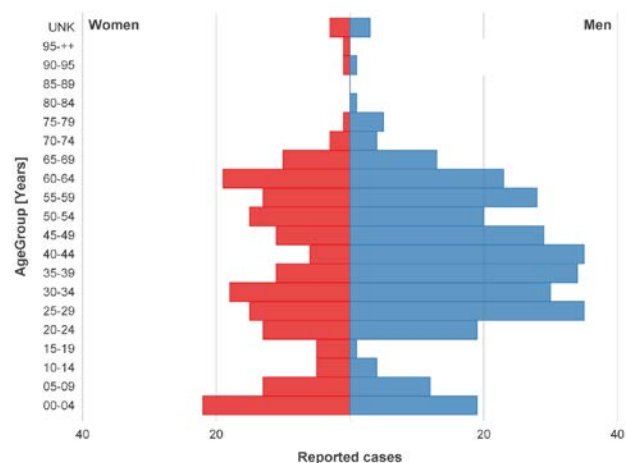


Figure 6. Pyramide des âges générée pour les infections confirmées à *Shigella*, période 2024.

3.3. DISTRIBUTION DES ESPECES ET SÉROVARS

La proportion des différentes espèces de *Shigella* est résumée dans le tableau 2 et la figure 6. Comme l'illustre cette figure 6, la répartition des espèces de *Shigella* est très stable en Belgique depuis plus de deux décennies. En 2020, cependant, le nombre de *S. sonnei* a fortement diminué pour atteindre seulement 52 souches. Cela s'explique probablement en partie par le caractère lié aux voyages et en partie par la transmission sexuelle de cet agent pathogène. À partir de septembre 2021, le nombre d'infections à *S. sonnei* a de nouveau augmenté, en partie en raison de nouvelles flambées internationales chez les hommes homosexuels (HSH) et en partie de la levée des restrictions liées à la Covid. En 2023, les infections à *S. sonnei* ont atteint un niveau record, mais en 2024, elles représentaient également 336/510 (65,9 %) du nombre total de shigelloses en Belgique.

Le nombre de souches de *S. boydii* généralement associées aux voyages en Inde était faible (0,8 %, 4/510), tout comme le nombre d'isolats de *S. dysenteriae* (0,6 %, 3/510).

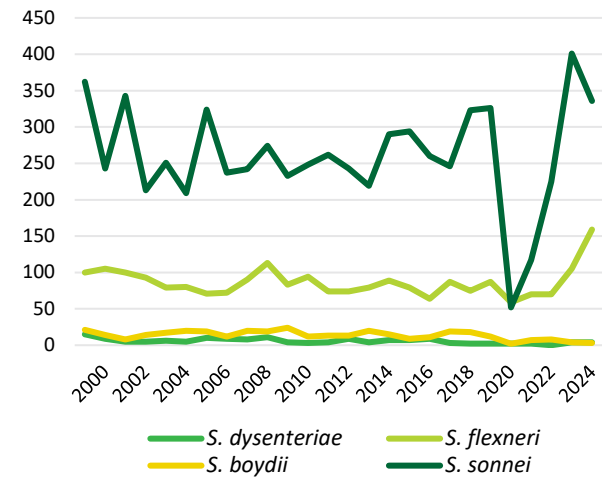


Figure 7. Evolution du nombre absolu de souches de *Shigella* uniques analysées au CNR, 1999-2024.

Une observation frappante pendant la pandémie est que la prévalence de *S. flexneri* dépendait beaucoup moins des mesures Covid (figure 7, tableau 2), les nombres absolus restant plus ou moins aux niveaux pré-pandémiques. En 2024, la proportion d'infections à *S. flexneri* a augmenté de manière significative (voir section 3.4), passant de 20 % en 2023 à **31,2 %** (159/510) en 2024. Les sérotypes les plus répandus restent *S. flexneri* 2a (11,2 % en 2024 contre 7,8 % en 2023) et *S. flexneri* 1b (8,8 % en 2024 contre 4,7 % en 2023).

Tableau 2. Aperçu des différents sérotypes identifiés, 2024.

Sérotype		N	%
<i>Sonnei</i>		336	65,9
	2a	57	11,2
	1b	45	8,8
	3b	9	1,8
	6	7	1,4
<i>Flexneri</i>	3a	10	2,0
	4	3	0,6
	Y	5	1,0
	5	2	0,4
	2b	2	0,4
	x	1	0,2
	UNK	17	3,3
<i>Boydii</i>	2	2	0,4
	8	1	0,2
	12	1	0,2
<i>Dysenteriae</i>	7	2	0,4
	2	1	0,2

Tableau 3. Aperçu des clusters Shigella en 2024.

	Cluster ¹	EPIS ²	MSM ³	Travel	Isolates (total)	Isolates in 2024 ⁴	AMR ⁵			
							CSP	CIP	AZM	Cotrim
INTERNATIONAL ALERTS	Sonnei_2020_alpha	ARH-00002 / 2023-EIP-00023	YES	Capo Verde Tunisia	94	2				
	sonnei_2022_alpha	2022-FWD-00088	NO		20	9				
	Sonnei_2022_beta	2022-FWD-00092	NO		21	3				
	Sonnei_2023_kappa	2023-FWD-00037	YES		127	93				
	Flexneri_2023_alpha	2023-EIP-00023-1	YES		27	18				
	Flexneri_2023_beta	2023-EIP-00023-2	YES		24	12				
	Sonnei_2023_zeta	2024-FWD-00074	YES	Egypt	83	30				
	Sonnei_2023_beta	2024-FWD-00091	NO		54	29				
	Sonnei_2023_gamma	2024-FWD-00092	NO		26	14				
	Flexneri_2024_alpha	2024-FWD-00094	YES		22	8				
	Flexneri_2024_beta	2024-FWD-00093	YES		19	15				
NATIONAL OUTBREAKS	Sonnei_2019_alpha	NA	NO	Morocco	109	18				
	Sonnei_2021_alpha	NA	NO	Morocco	27	13				
	Sonnei_2023_alpha	NA	YES	Egypt	9	1				
	Sonnei_2023_delta	NA	NO		16	9				
	Sonnei_2023_epsilon	NA	NO		30	4				
	Sonnei_2024_alpha	NA	NO	Congo	5	5				
	Flexneri_2024_gamma	NA	YES	Morocco	8	8				
	Sonnei_2024_beta	NA	NO		9	6				

¹ Clusters were named after the year of first appearance

² NA, no international alert at time of writing

³ Based on M/V ratio >3

⁴ Number of isolates belonging tot this cluster isolated between 01/12/2024 and 31/12/2024.

⁵ Antimicrobial resistance to cephalosporines (CSP), ciprofloxacin (CIP), azithromycin (AZM) and Co-trimoxazole (Cotrim) is indicated in red shading, Susceptible at Increased Exposure (I) is indicated in yellow.

3.4. RÉPARTITION GÉOGRAPHIQUE

La Figure 8 donne un aperçu de la répartition géographique des shigelloses humaines. En 2024, la majorité des souches (64,7%) provenaient de Flandre ; les patients wallons et bruxellois représentaient respectivement 19,6% et 11,2% des souches. Cette répartition entre les régions est similaire à celle des années précédentes. Par arrondissement, les incidences les plus élevées en 2023 ont été mesurées à Antwerpen (8,4 cas/100 000 habitants), Gent (7,3 cas/100 000 habitants) et Kortijk (7 cas/100 000 habitants).

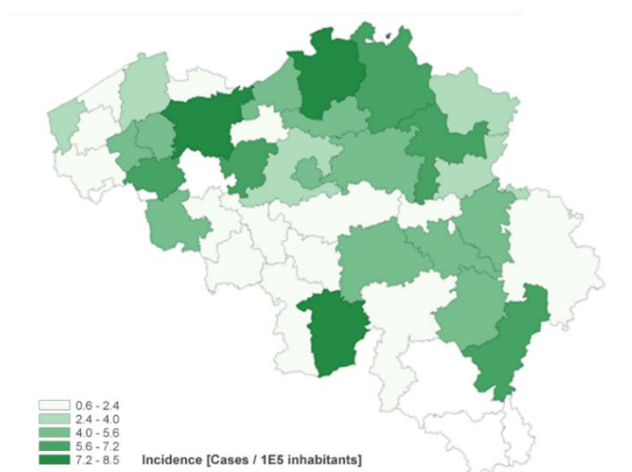


Figure 8. Incidence des infections humaines totales à *Shigella* par arrondissement (2024), sur la base du nombre de cas confirmés par le CNR. Représentés pour 100 000 habitants.

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. 145 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).

Ce tableau 3 montre que plus de 45 % (233/510) des cas de shigellose belges sont liés à des foyers internationaux et aux alertes EpiPulse associées. Les principaux foyers nationaux et internationaux sont brièvement présentés ici.

- Le cluster Sonnei_2023_gamma comprend un total de 26 souches de *S. sonnei*, dont 21 ont été isolées chez des enfants de moins de 10 ans, tous originaires de la région d'Anvers. Le NRC a lancé une alerte internationale (2024-FWD-00092) pour ce cas, et des souches identiques ont été trouvées aux Pays-Bas (2) et aux États-Unis (3), liées à des voyages en Israël et/ou dans des écoles religieuses.
- L'alerte 2023-FWD-00037 (Sonnei_2023_kappa, figure 9) inclut un groupe de souches de *S. sonnei* XDR (n = 93 en 2024) qui ont été distribuées à l'échelle internationale au sein de la communauté HSH et ont été signalées aux Pays-Bas, au Danemark, en Suède, en Irlande et en Allemagne, entre autres. Ce pic d'infections a eu lieu à l'été 2024, avec des infections sporadiques à l'automne et à l'hiver.
- Le NRC a également lancé l'alerte 2024-FWD-00091 concernant le groupe de cas Sonnei_2023_beta (blaCTX-M-15, qnrS1) qui circule parmi les voyageurs en provenance d'Égypte et de Jordanie depuis 2018. En 2024, 29 cas ont été signalés. Cette souche a également été signalée aux Pays-Bas (n = 11), en Allemagne (n = 3), au Danemark (n = 1) et aux États-Unis (n = 12).

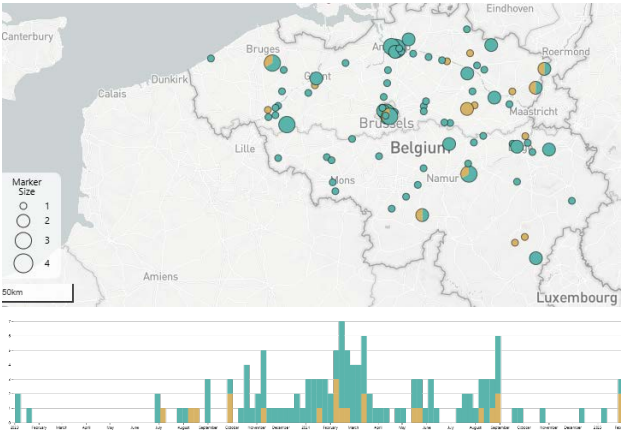


Figure 9. Regroupement géographique et chronologie des infections dans le cluster Sonnei_2023_Kappa avec des indications entre 07/2023 et 02/2025. Vert, homme ; Orange, femme

- Le cluster Sonnei_2023_zeta (2024-FWD-00074) est un clone de *S. sonnei* qui circule activement dans la communauté HSH (Figure 10) et a provoqué une importante propagation en Flandre occidentale en septembre 2023. En 2024, une alerte internationale a été créée par la Norvège, montrant la large distribution de cette souche aux Pays-Bas (n=56), en Irlande (n=18), en Belgique (n=83), en Allemagne (n=8) et aux États-Unis (n=268).

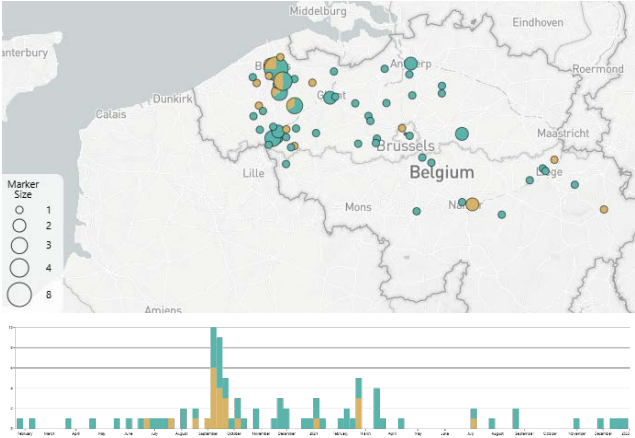


Figure 10. Aperçu du cluster Sonnei_2023_zeta avec indications entre 02/2023 et 02/2025. Patients masculins et féminins en vert et jaune, respectivement. Le pic de septembre 2023 est clairement visible.

- Il existe au moins trois clusters nationaux de *S. sonnei* liés à un voyage récent au Maroc (Sonnei_2019_alpha, 2021_alpha et 2024_beta). Ces souches sont souvent sensibles aux antibiotiques et se rencontrent principalement chez les femmes et les enfants.

3.5. INFECTIONS LIÉES AU VOYAGE

En 2024, 65 cas (12,7 %) ont été signalés comme étant liés à un voyage, un niveau similaire à celui des années précédentes (14-16 %). Il convient de noter que 16 cas liés à un voyage provenaient du Maroc, et six d'Espagne et d'Égypte. Un aperçu des cas liés à un voyage est présenté au tableau 4.

Tableau 4. Souches de *Shigella* liées à un récent séjour à l'étranger, 2024.

	Sérotype	N
Marocco	<i>S. sonnei</i>	9
	<i>S. flexneri</i> 2a	2
	<i>S. dysenteriae</i> 7	1
	<i>S. flexneri</i> 1b	1
	<i>S. flexneri</i> 2a	1
	<i>S. flexneri</i> 4	1
Spain	<i>S. flexneri</i> 2a	2
	<i>S. sonnei</i>	4
Egypt	<i>S. sonnei</i>	6
India	<i>S. flexneri</i> 2a	1
	<i>S. sonnei</i>	2
Congo	<i>S. flexneri</i> 1b	1
	<i>S. flexneri</i> 3a	1
	<i>S. sonnei</i>	1
Mexico	<i>S. flexneri</i> 2a	1
	<i>S. flexneri</i> 3a	1
	<i>S. sonnei</i>	1
Cameroon	<i>S. dysenteriae</i> 2	1

	<i>S. sonnei</i>	1
Kenya	<i>S. sonnei</i>	2
Burundi	<i>S. sonnei</i>	2
South Africa	<i>S. flexneri 4</i>	1
	<i>S. sonnei</i>	1
Costa	<i>S. sonnei</i>	2
Senegal	<i>S. flexneri 4a</i>	1
	<i>S. flexneri 6</i>	1
Nigeria	<i>S. flexneri 1b</i>	1
Cuba	<i>S. flexneri 2a</i>	1
Rwanda	<i>S. sonnei</i>	1
Indonesie	<i>S. flexneri 2a</i>	1
Cape Verde	<i>S. sonnei</i>	1
Madagascar	<i>S. sonnei</i>	1
CAR	<i>S. sonnei</i>	1
Colombie	<i>S. sonnei</i>	1
Czech Republic	<i>S. flexneri y</i>	1
Comodja	<i>S. sonnei</i>	1
Afghanistan	<i>S. flexneri 2a</i>	1
Benin	<i>S. flexneri 1b</i>	1
Gambia	<i>S. sonnei</i>	1
Ghana	<i>S. flexneri 1b</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.

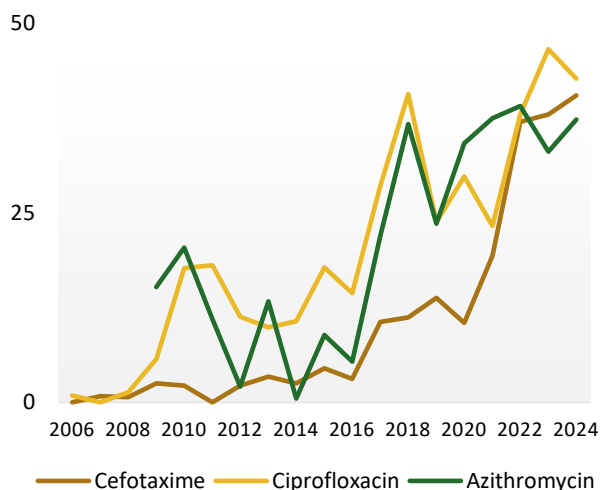


Figure 11. Evolution de la résistance (%) de *Shigella* spp. contre trois antibiotiques cliniquement importants, 2006-2024.

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 (1 g IV) ou l'azithromycine. Parmi les demandes de typage reçues par le NRC, **116/510 ont indiqué que des antibiotiques avaient été prescrits**. Dans 43 % (48/116) des cas, il s'agissait d'azithromycine et dans 7 % des cas de ciprofloxacine. Cependant, une résistance croissante à la ciprofloxacine et à l'azithromycine a récemment été signalée à l'échelle mondiale, principalement chez *S. sonnei* et *S. flexneri* de sérotype 3a respectivement. Cela rend nécessaire une surveillance constante de la résistance aux antibiotiques au niveau national. Cette surveillance était auparavant occasionnelle, mais depuis 2004, le NRC surveille la sensibilité aux antimicrobiens des souches isolées.

Depuis 2017, le NRC a adopté la 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 504/510 des isolats de *Shigella* confirmés. Les tendances générales sont présentées à la figure 11 et au tableau 5.

Dans ce rapport, la multirésistance aux antibiotiques (MDR) est définie comme une résistance à plus de trois classes d'antibiotiques. En 2024, le nombre de souches **MDR** est passé de 39,0 % à **44,6%**. En comparaison, en 2016, le nombre de souches MDR de *Shigella* n'était que de 13,1 %. Seuls 6,5 % des échantillons étaient sensibles à tous les antibiotiques testés.

Table 5. Résistance globale (%) de *Shigella* spp. en Belgique, période 2022-2024.

Classe	Antibiotique	2022	2023	2024
<i>B-lactams</i>	AMPICILLINE	59,9	54,4	61,7
	CEFOTAXIME	37,0	38,0	40,5
	CEFTAZIDIME	29,3	29,4	34,3
	MEROPENEM	0,0	0,0	0,0
	ERTAPENEM	0,0	0,0	0,0
<i>Protein synthesis inhibitors</i>	CHLORAMPHENICOL	-	-	-
	GENTAMICINE	1,7	0,6	1,2
	TETRACYCLINE	71,4	71,4	74,2
	TIGECYCLINE	-	-	-
	AZYTHROMYCINE	34,8	32,3	33,4
<i>Gyrase inhibitors</i>	CIPROFLOXACINE	38,0	46,6	42,7
<i>Cell wall inhibitor</i>	COLISTINE	0,3	0,2	0,2
<i>Folate Synthesis</i>	SULFA-METHOXAZOLE	-	-	-
	TRIMETHOPRIM	92,3	91,8	88,1

Le fort pic de résistance à la ciprofloxacine et à l'azithromycine en 2018 (Figure 10) 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*⁴.

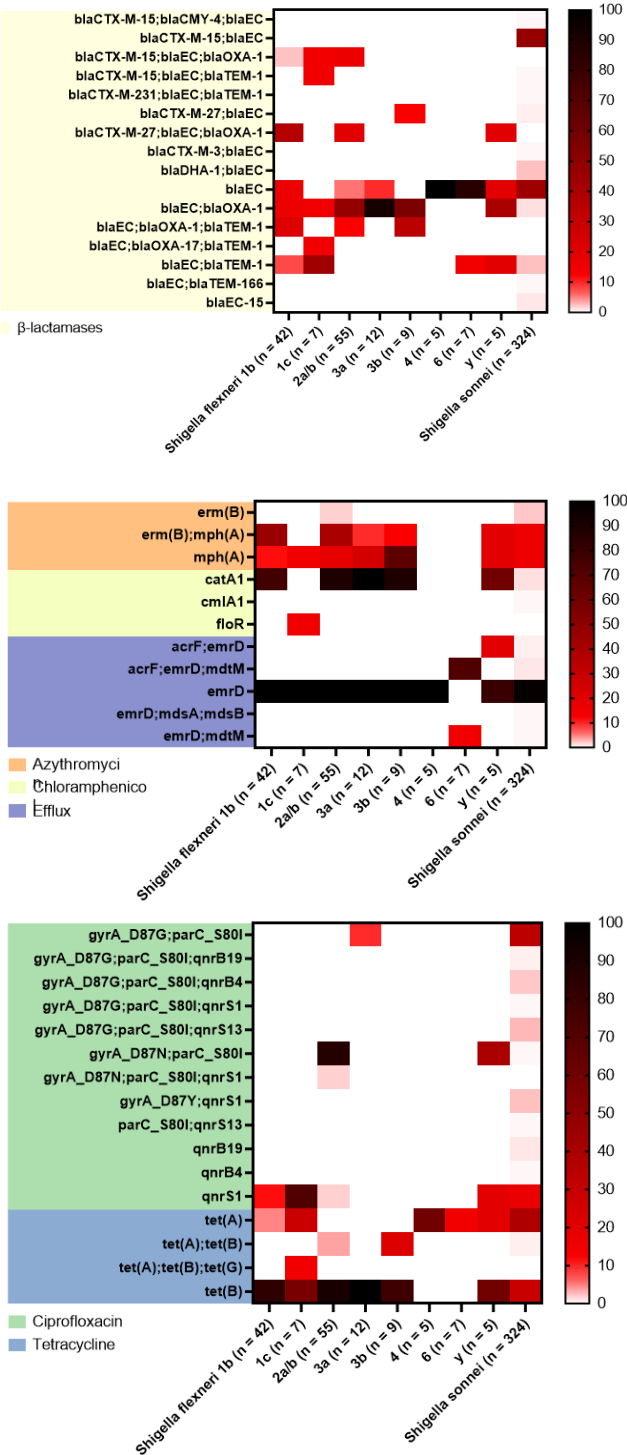


Figure 12. Cartes thermiques des différents gènes de résistance (%) aux différentes classes d'antibiotiques, identifiés chez *S. sonnei* et *S. flexneri* (n>5), selon les données NGS.

Si la résistance est rare chez *S. boydii* et *S. dysenteriae*, des tendances différentes sont observées pour les autres sérotypes.

Une observation très frappante chez *S. sonnei* (Figure 13) est la forte augmentation de la résistance aux antibiotiques indicateurs de la production de BLSE (céfotaxime et/ou ceftazidime), passant de 15 % avant la pandémie à 44 % en 2024. Cette augmentation est principalement due à la forte circulation des gènes blaCTX-M-15 codés par des plasmides dans certaines souches épidémiques (Figure 8). Ces souches sont souvent également porteuses des gènes qnrB19 et mphA, entraînant respectivement une résistance à la ciprofloxacine et aux macrolides.

La résistance à la ciprofloxacine est également élevée chez *S. sonnei* (43,6 % en 2024), avec 132/335 (39,4 %) souches hautement résistantes à cet antibiotique (MIC ≥ 4 µg/mL). Cette résistance est principalement liée à des mutations du gène gyrA. Pour l'azithromycine (MIC ≥ 16 mg/L), le niveau de résistance reste stable à 33 % et est causé par les gènes mdf(A), mph(A) et erm(B). Enfin, les isolats de *S. sonnei* sont également généralement résistants à la tétracycline et au cotrimoxazole (Figure 13).

	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023	2024
AMP	35,7	61,4	43,5	59,6	36,4	50,2	47,4	53,7
CTX	13,3	14,1	17,4	21,1	29,7	47,5	43,0	47,8
CAZ	10,6	9,9	12,9	19,2	27,1	37,5	32,6	39,1
MEM	0	0	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	0,0
CHL	3,5	9	1,9	9,6	5,9	6,8	4,2	5,9
GEN	2	7,2	0,6	1,9	0,0	0,0	0,3	0,6
TCY	69,4	85,6	73,5	76,9	81,3	65,1	81,3	71,3
TGC	3,5	10,9	5,7	3,8	3,4	2,2	1,6	8,7
AZM	23,1	42	20,8	32,6	27,9	34,8	32,3	33,4
CIP	27,5	46,7	22,1	34,6	26,2	39,3	49,5	43,6
COL	0,4	0,6	0,6	0,0	0,0	0,4	0,3	0,0
SMX	70,2	87,1	79,2	92,3	88,1	77,8	85,7	73,4
TMP	98,4	97,5	98,7	94,2	100,0	98,2	98,4	97,1

Figure 13. Carte thermique de la résistance aux antibiotiques (%) chez *S. sonnei* (2017-2024). 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 14) se caractérise par une résistance élevée et croissante aux anciens antibiotiques que sont l'ampicilline, le chloramphénicol et la tétracycline. La résistance à l'azithromycine a augmenté de manière significative ces dernières années, mais a diminué en 2024 chez *S. flexneri* 3a/b (47 %). La résistance à la ciprofloxacine ne pose problème que chez *S. flexneri* 2a, où un niveau record (89 %) a de nouveau été mesuré en 2024. Le niveau croissant de résistance aux céphalosporines de 3e génération (CTX et CAZ), tant chez *S. flexneri* 1b que 2a,

⁴ 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

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

est également frappant, et cela est principalement lié au gène blaCTX-M-27 dans les souches XDR de *S. flexneri* circulantes chez les HSH (Section 3.4).

	1b			2a/b			3a/b		
	2020	2022	2024	2020	2022	2024	2020	2022	2024
AMP	92,3	88,9	84,4	94,7	94,7	89,6	91,6	91,6	94,7
CTX	0	5,5	40,0	0,0	5,2	34,5	0,0	8,3	5,3
CAZ	0	5,5	40,0	0,0	5,2	31,0	0,0	8,3	10,5
MEM	0	0	0,0	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	0,0	0,0
CHL	76,9	83,3	75,6	84,2	89,4	84,5	100,0	100,0	94,7
GEN	0	0	0,0	5,2	26,3	5,2	0,0	0,0	0,0
TCY	84,6	83,3	88,9	100,0	84,2	89,7	100,0	100,0	100,0
TGC	0	5,5	11,1	0,0	0,0	6,9	0,0	8,3	5,3
AZM	15,3	61,1	55,6	42,1	63,2	62,1	83,3	91,6	47,4
CIP	23,1	11,1	11,1	42,1	52,3	89,6	16,6	8,3	5,2
COL	0	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
SMX	38,4	11,1	28,9	63,1	52,6	22,4	8,3	16,6	31,6
TMP	76,9	83,3	86,7	78,9	84,2	91,4	16,6	16,6	36,8

Figure 14. Carte thermique pour la résistance aux antibiotiques (%) chez *S. flexneri* 1b, 2a et 3a/b (2020-2024). 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 (2024)

Closing the gap: Oxford Nanopore Technologies R10 sequencing allows comparable results to Illumina sequencing for SNP-based outbreak investigation of bacterial pathogens.

Bogaerts B, Van den Bossche A, Verhaegen B, Delbrassinne L, Mattheus W, Nouws S, Godfroid M, Hoffman S, Roosens NHC, De Keersmaecker SCJ, Vanneste K. J Clin Microbiol. 2024 May 8;62(5):e0157623.

doi: 10.1128/jcm.01576-23. Epub 2024 Mar 5. PMID: 38441926; PMCID: PMC11077942.

Abstract

Whole-genome sequencing has become the method of choice for bacterial outbreak investigation, with most clinical and public health laboratories currently routinely using short-read Illumina sequencing. Recently, long-read Oxford Nanopore Technologies (ONT) sequencing has gained prominence and may offer advantages over short-read sequencing, particularly with the recent introduction of the R10 chemistry, which promises much lower error rates than the R9 chemistry. However, limited information is available on its performance for bacterial single-nucleotide polymorphism (SNP)-based outbreak investigation. We present an open-source workflow, Prokaryotic Awesome variant Calling Utility (PACU) (<https://github.com/BioinformaticsPlatformWIV-ISP/PACU>), for constructing SNP phylogenies using Illumina and/or ONT R9/R10 sequencing data. The workflow was evaluated using outbreak data sets of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* by comparing ONT R9 and R10 with Illumina data. The performance of each sequencing technology was evaluated not only separately but also by integrating samples sequenced by different technologies/chemistries into the same phylogenomic analysis. Additionally, the minimum sequencing time required to obtain accurate phylogenetic results using nanopore sequencing was evaluated. PACU allowed accurate identification of outbreak clusters for both species using all technologies/chemistries, but ONT R9 results deviated slightly more from the Illumina results. ONT R10 results showed trends very similar to Illumina, and we found that integrating data sets sequenced by either Illumina or ONT R10 for different isolates into the same analysis produced stable and highly accurate phylogenomic results. The resulting phylogenies for these two outbreaks stabilized after ~20 hours of sequencing for ONT R9 and ~8 hours for ONT R10. This study provides a proof of concept for using ONT R10, either in isolation or in combination with Illumina, for rapid and accurate bacterial SNP-based outbreak investigation.

[Open access here](#)

CONTACT

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



QUESTIONS, REMARQUES OU
PLUS D'INFORMATIONS:

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**

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