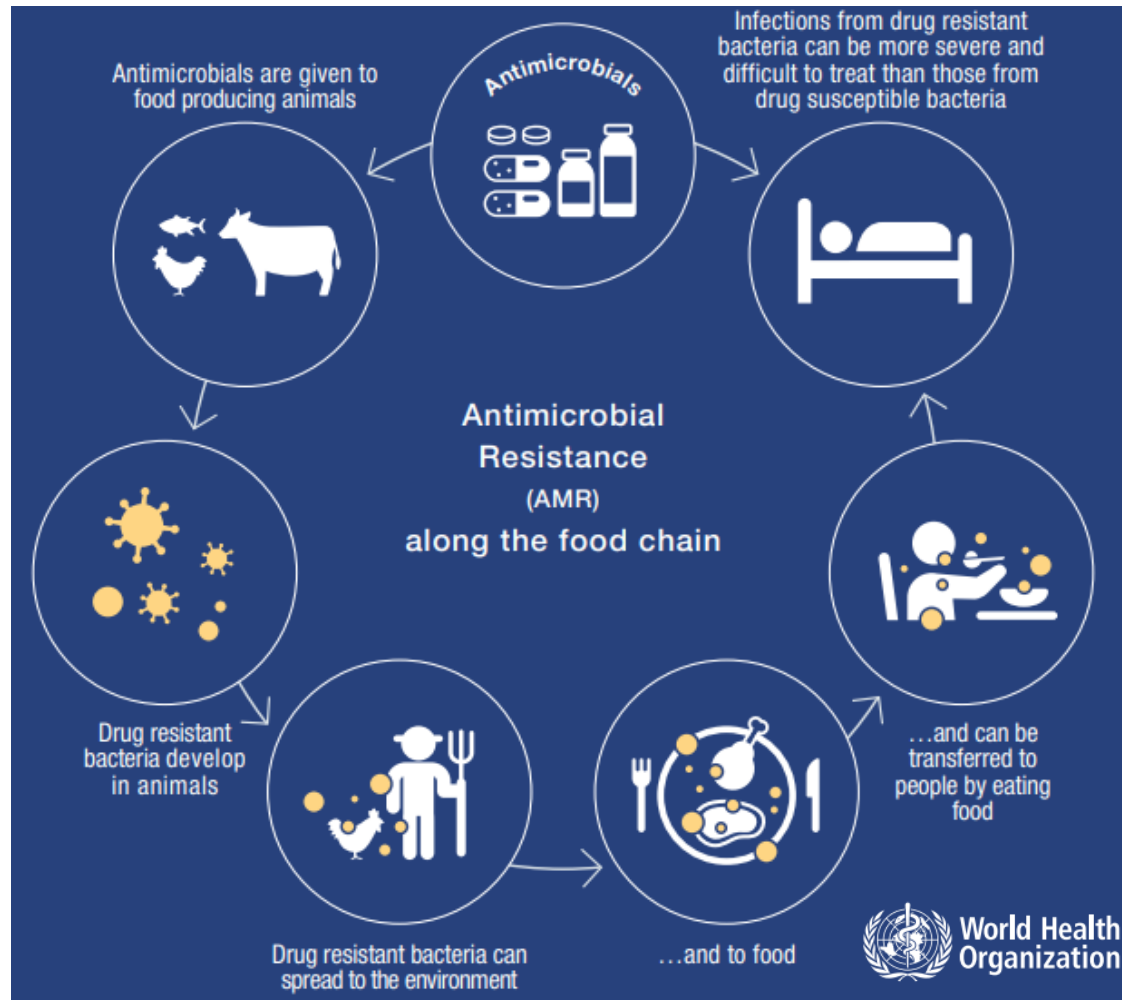


# SURVEILLANCE DE LA RÉSISTANCE AUX ANTIMICROBIENS CHEZ *E.COLI* (ESBL) DANS LES DENRÉES ALIMENTAIRES ET LA PRODUCTION PRIMAIRE

# L'AMR dans la chaîne alimentaire



# Décision d'exécution (UE) 2020/1729

Décision d'exécution (UE) 2020/1729 du 17/11/2020

## *E.coli* & *Salmonella* spp.

**Amikacine**

→ Aminoglycoside

Céfotaxime

Ceftazidime

Ampicilline

Tétracycline

Ciprofloxacine

Acide Nalidixique

Sulfaméthoxazole

Gentamicine

Méropénème

Triméthoprime

Chloramphenicol

Colistine

Azithromycine

Tigecycline

## *Campylobacter* spp.

**Ertapénème**

→ Carbapénème

**Chloramphenicol**

→ Phénicol

Ciprofloxacine

Erythromycine

Tétracycline

Gentamicine

**Acide nalidixique**

**Streptomycine**

Suppression de la surveillance de *Salmonella* dans les carcasses d'animaux (porcs, veaux, volailles)

# Surveillance de différentes substances antimicrobiennes

Surveillance de l'AMR : Plusieurs antimicrobiens d'importance critique (classement selon l'OMS)

Antimicrobial class	
<b>Critically Important</b>	<b>CRITICALLY IMPORTANT ANTIMICROBIALS</b>
	<i>HIGHEST PRIORITY</i>
	<i>Cephalosporins (3<sup>rd</sup>, 4<sup>th</sup> and 5<sup>th</sup> generation)</i>
	<i>Glycopeptides</i>
	<i>Macrolides and ketolides</i>
	<i>Polymyxins</i>
	<i>Quinolones</i>
	<i>HIGH PRIORITY</i>
	<i>Aminoglycosides</i>
	<i>Ansamycins</i>
	<i>Carbapenems and other penems</i>
	<i>Glycylcyclines</i>
	<i>Lipopeptides</i>
	<i>Monobactams</i>
	<i>Oxazolidinones</i>
	<i>Penicillins (antipseudomonal)</i>
	<i>Penicillins (aminopenicillins)</i>
	<i>Penicillins (aminopenicillins with <math>\beta</math>-lactamase inhibitors)</i>
	<i>Phosphonic acid derivatives</i>
	<i>Drugs used solely to treat tuberculosis / mycobacterial diseases</i>

## *E.coli & Salmonella spp.*

**Amikacine**

Céfotaxime

Ceftazidime

Ampicilline

Tétracycline

**Ciprofloxacine**

Acide Nalidixique

Sulfaméthoxazole

**Gentamicine**

**Méropénème**

Triméthoprim

Chloramphénicol

**Colistine**

**Azithromycine**

**Tigécycline**

## *Campylobacter spp.*

**Ertapénème**

Chloramphénicol

**Ciprofloxacine**

Tétracycline

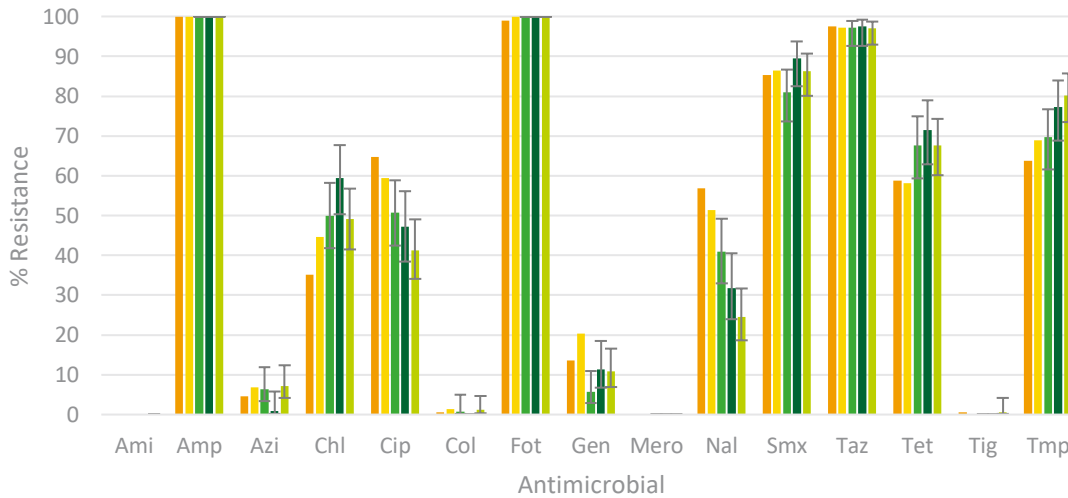
**Gentamicine**

**Erythromycine**

# Prevalence d'*E.coli* ESBL

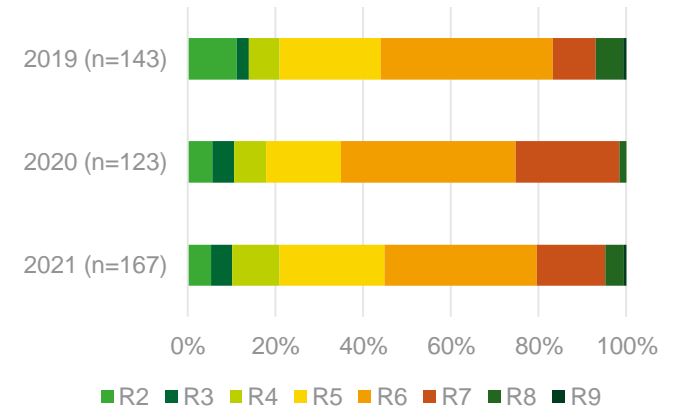
Prévalences ESBL 2021	Viande fraîche	Faeces
Poulets de chair	56 %	78,54 %
Porcs	3,33 %	40,33 %
Bœuf	2 %	59,80 %

# Surveillance spécifique des bactéries *E. coli* productrices de $\beta$ -lactamases, ou de carbapénémases dans la viande de volaille

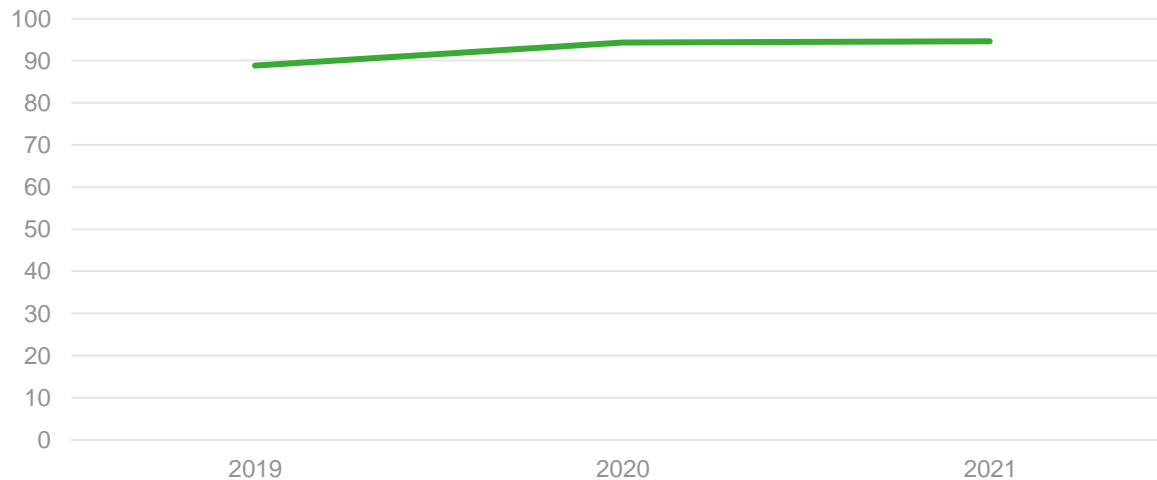


■ 2017 ■ 2018 ■ 2019 ■ 2020 ■ 2021

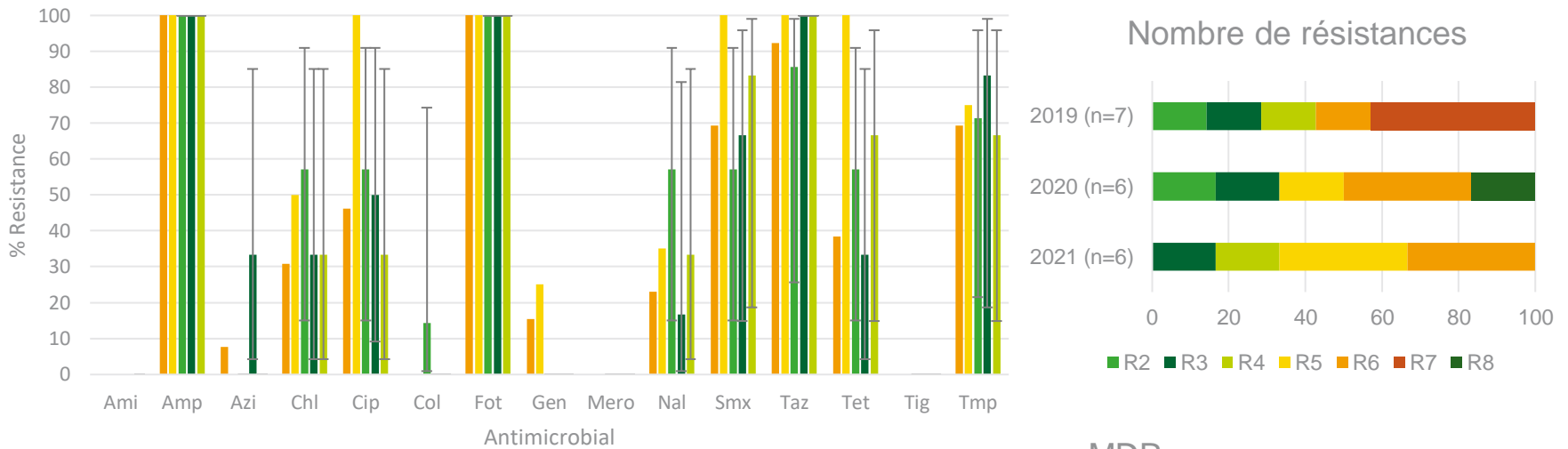
Nombre de résistances



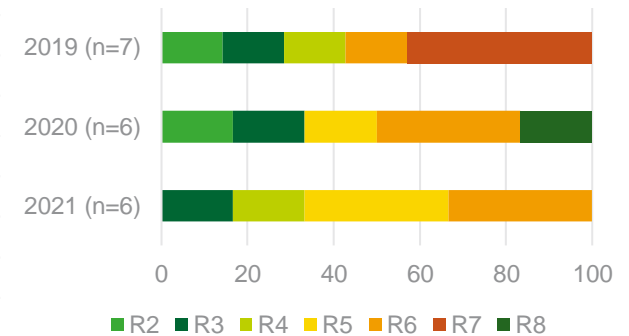
MDR



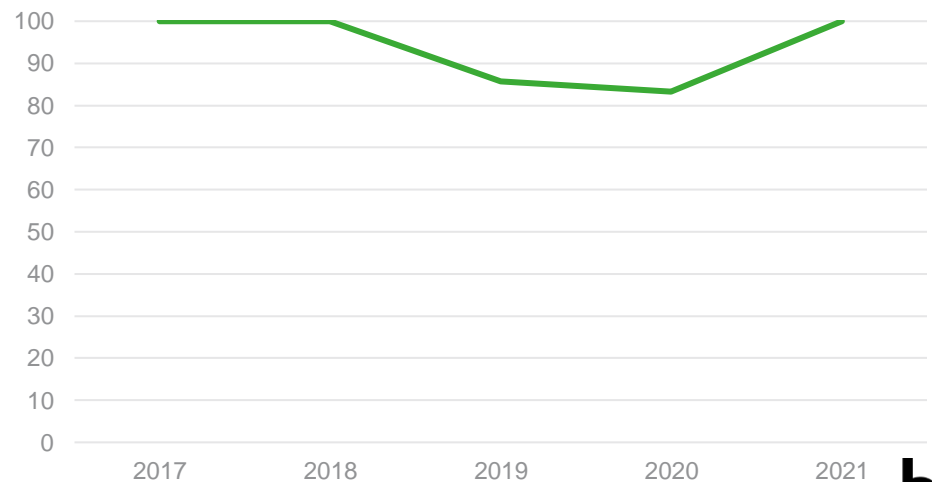
# Surveillance spécifique des bactéries *E. coli* productrices de $\beta$ -lactamases, ou de carbapénémases dans la viande de porc



Nombre de résistances



MDR

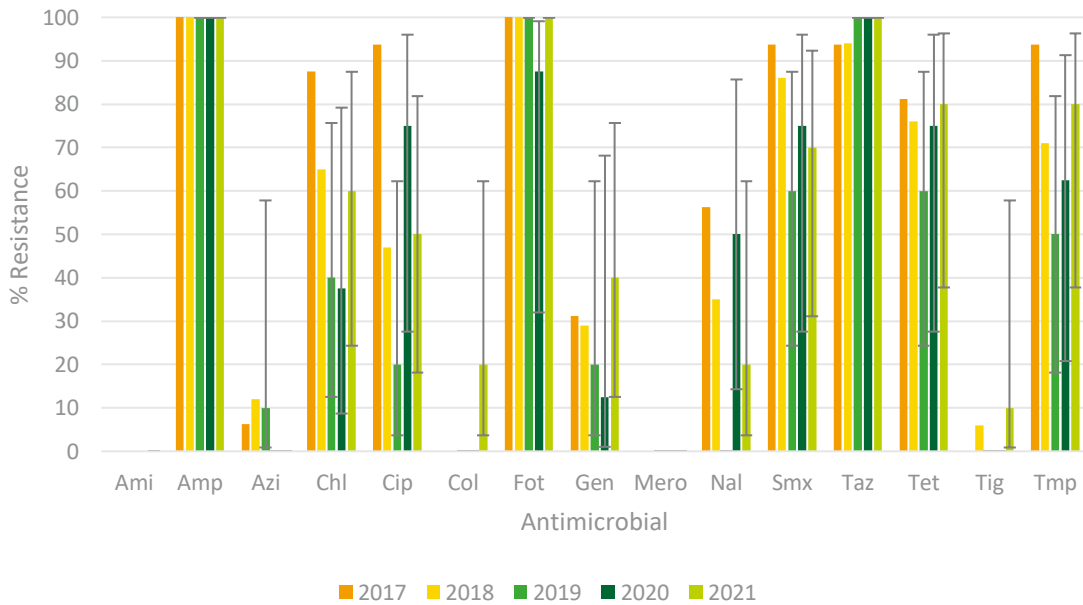


! Faible prévalence

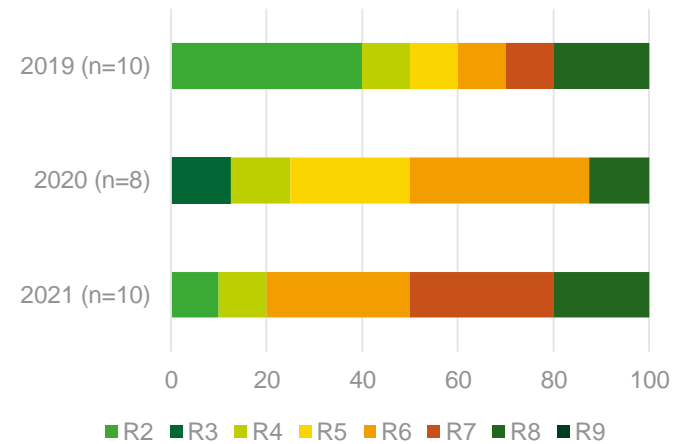
100% MDR

Pas de souches R7/R8 en 2021

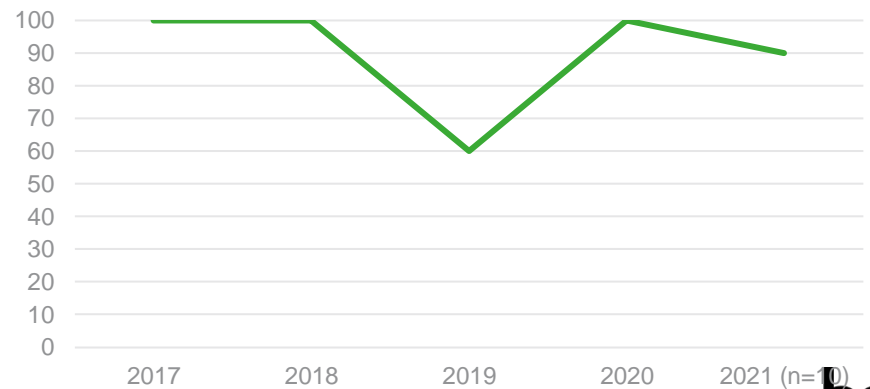
# Surveillance spécifique des bactéries *E. coli* productrices de $\beta$ -lactamases, ou de carbapénémases dans la viande de boeuf



Nombre de résistances



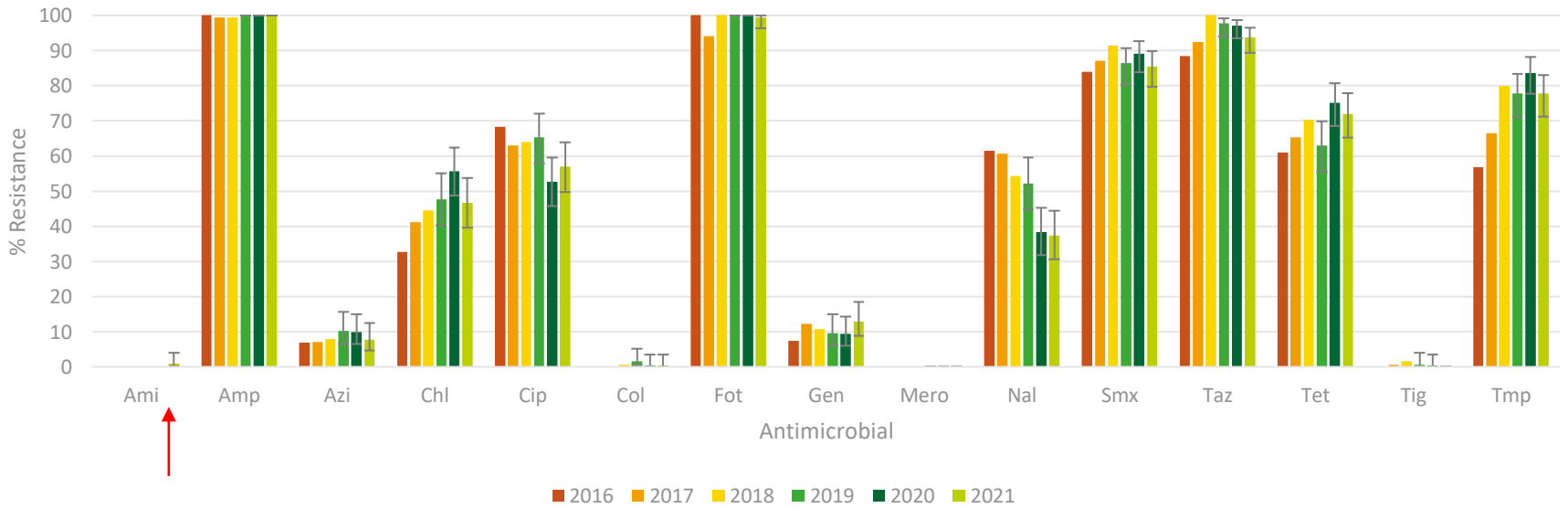
MDR



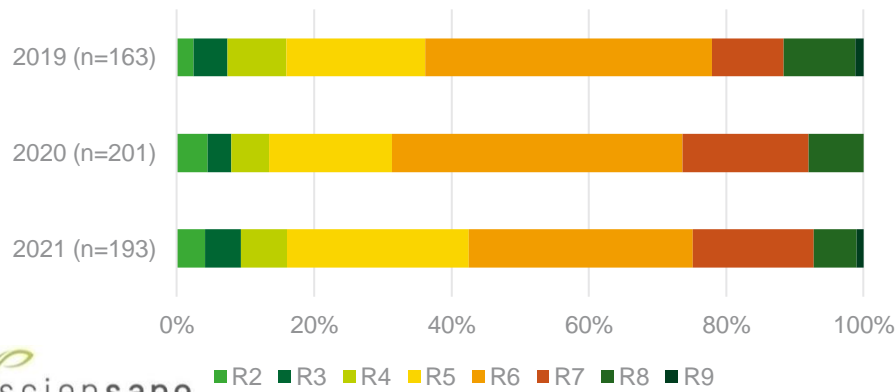
! Faible prévalence



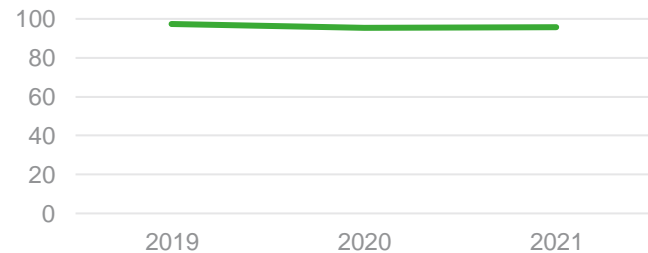
# Surveillance spécifique des bactéries *E. coli* productrices de $\beta$ -lactamases, ou de carbapénémases dans la matière fécale de poulets de chair



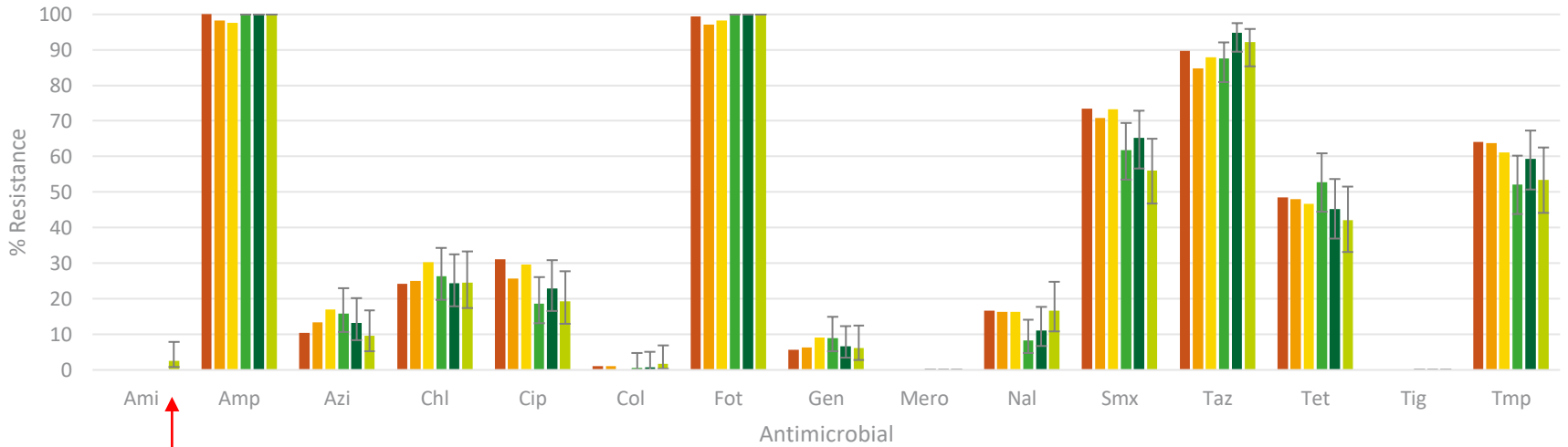
Nombre de résistances



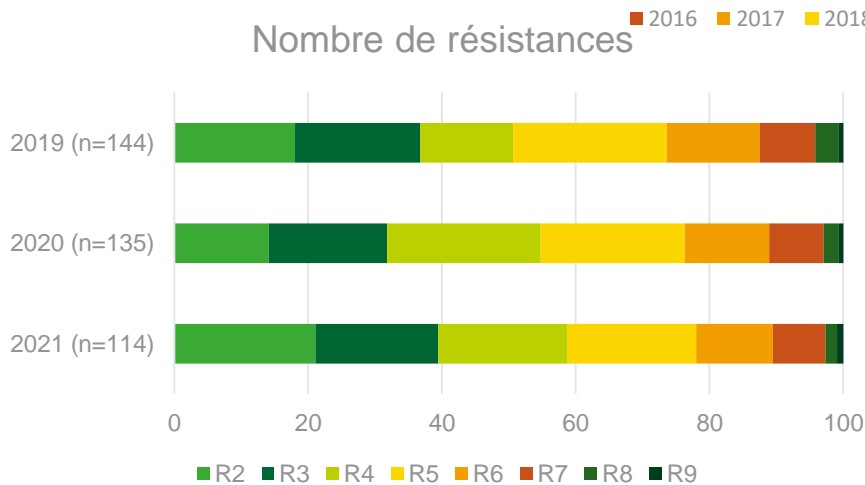
MDR



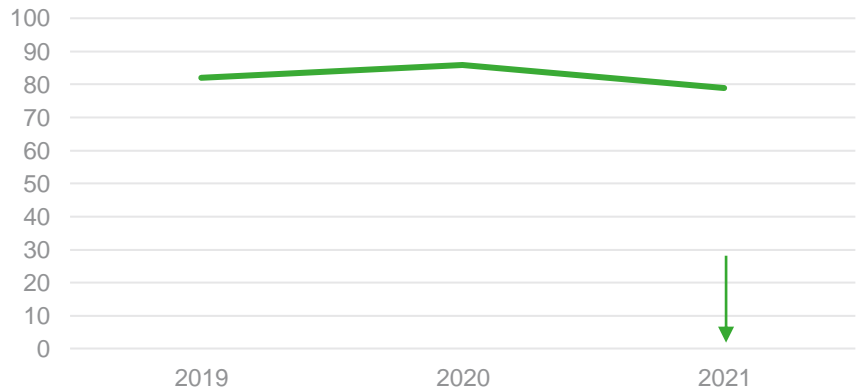
# Surveillance spécifique des bactéries *E. coli* productrices de $\beta$ -lactamases, ou de carbapénémases dans la matière fécale de porc



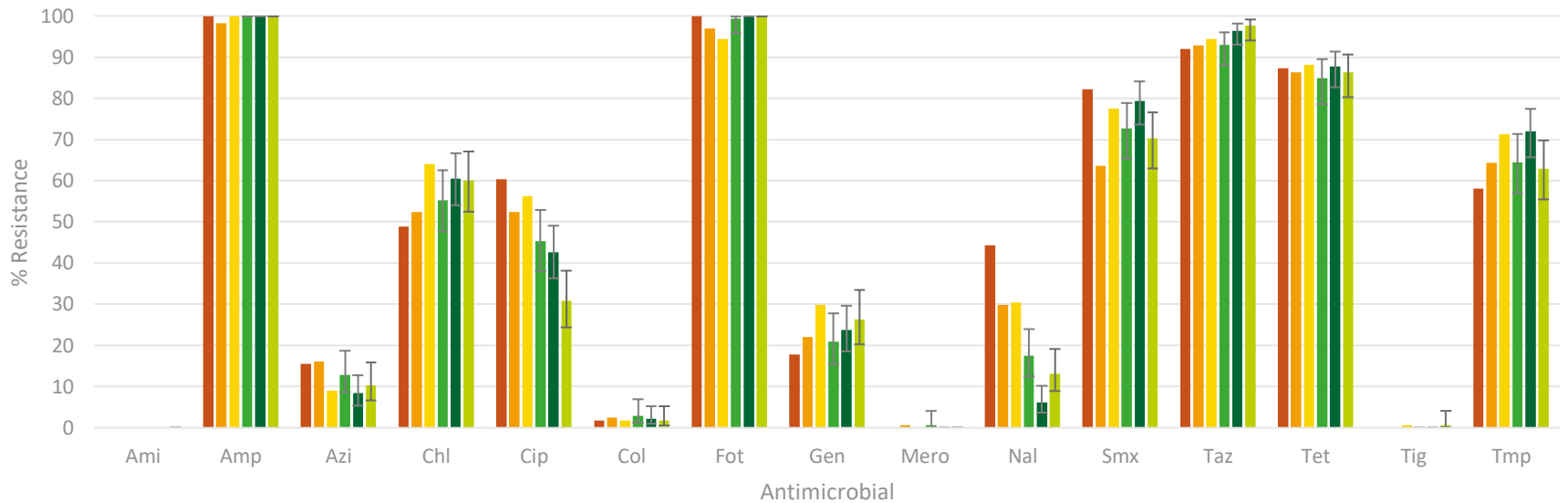
Nombre de résistances



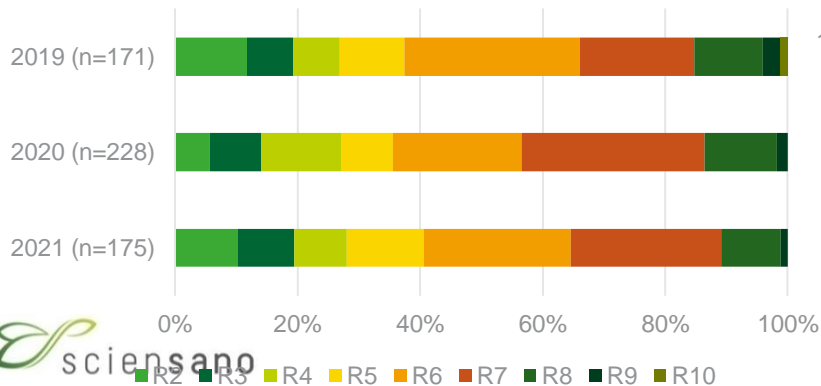
MDR



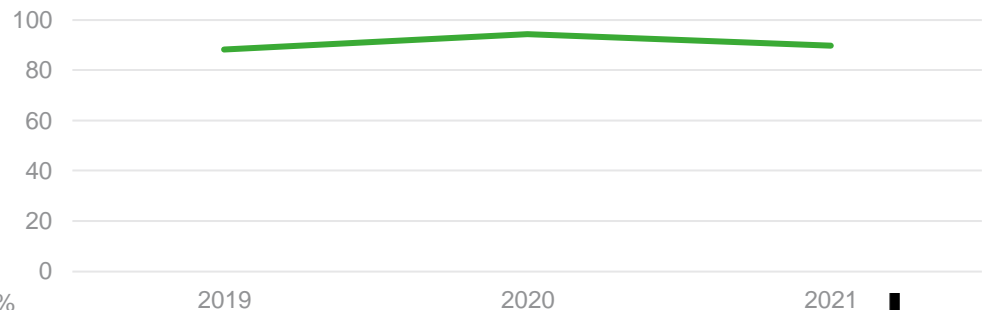
# Surveillance spécifique des bactéries *E. coli* productrices de $\beta$ -lactamases, ou de carbapénémases dans la matière fécale de bovins



Nombre de résistances



MDR



# RÉSULTATS DU SÉQUENÇAGE DES *E. COLI* BLSE

## GLASS whole-genome sequencing for surveillance of antimicrobial resistance

Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System (GLASS)

22 September 2020 | Report



Download (1.9 MB)

### Overview

Antimicrobial resistance (AMR) is an increasing threat to public health and sustainable development. The Action Plan on AMR underscores surveillance to strengthen the knowledge and evidence and monitoring the effectiveness of interventions. GLASS currently monitors human pathogens with microbiological data derived from phenotypic methods for AMR testing.

Whole-genome sequencing (WGS) provides a vast amount of information and the high-resolution pathogen subtyping. The application of WGS for global surveillance can provide information on the spread of AMR and further inform timely policy development on AMR control. Surveillance of AMR may provide key information to guide the development of rapid diagnostic methods for the rapid characterization of AMR, and thus complement phenotypic methods.

This document addresses the applications of WGS for AMR surveillance, including the limitations of current WGS technologies. Local, subnational, national and international examples of use of WGS in AMR surveillance. Information is also provided on the requirements for laboratories to ensure capacity for WGS and for introducing WGS into AMR surveillance.

# Implementation de WGS dans le cadre de la surveillance de la RAM

## Whole genome sequencing shows promise in fight against AMR

Published: 5 June 2019



## Technical specifications on harmonised monitoring of antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from food-producing animals and food

bacteria from seafood and the environment. Whole genome sequencing (WGS) of isolates obtained from the specific monitoring of ESBL/AmpC/carbapenemase-producing *E. coli* is strongly advocated to be implemented, on a voluntary basis, over the validity period of the next legislation, with possible mandatory implementation by the end of the period; the gene sequences encoding for ESBL/AmpC/carbapenemases being reported to EFSA. Harmonised protocols for WGS analysis/interpretation and external quality assurance programmes are planned to be provided by the EU-Reference Laboratory on AMR.

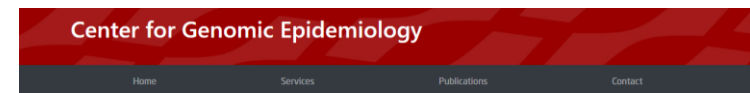
# Workflow



2020/7894 Monitoring RAM  
(previous 2013/652/EU)

Bioinformatic tools  
Resistance (ResFinder)  
Virulence (VirulenceFinder)  
Plasmids (PlamidFinder)  
cgMLST (cluster analysis)

WGS  
MiSeq Illumina  
In House Pipeline  
(Sciensano)



## ResFinder 4.1

Service [Instructions](#) [Output](#) [Article abstract](#) [Citations](#) [Overview of genes](#) [Database history](#)

ResFinder identifies acquired genes and/or finds chromosomal mutations mediating antimicrobial resistance in total or partial DNA sequence of bacteria.

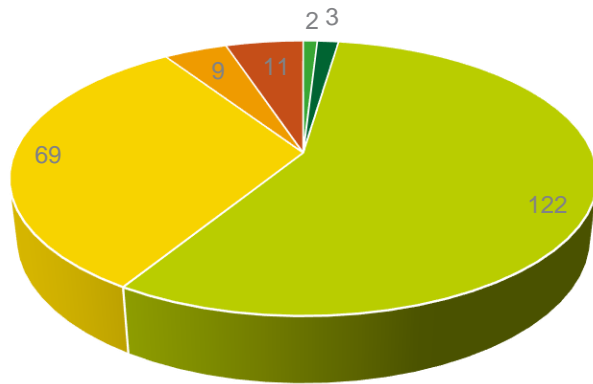
ResFinder and Pointfinder software: (2022-03-10)  
ResFinder database: EFSA\_2021 (2022-05-24)  
Pointfinder database: (2021-02-01)

For analysis part of EFSA, go to [ResFinder-EFSA](#)

The database is curated by:  
**Frank Møller Aarestrup**  
([click to contact](#))

# Analyse génétique des souches *E. coli* productrices de $\beta$ -lactamases

En 2021, le génome de 216 isolats d'*E. coli* BLSE provenant de la production primaire et de la viande fraîche ont été analysés par séquençage chez Sciensano (service pathogènes alimentaire).



- Viande de porc
- Viande de boeuf
- Viande de volaille
- Matière fécale volaille
- Matière fécale porc
- Matière fécale veaux



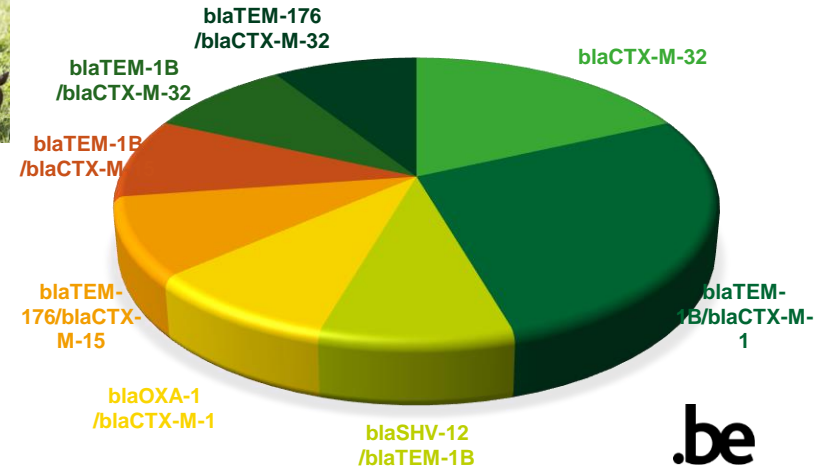
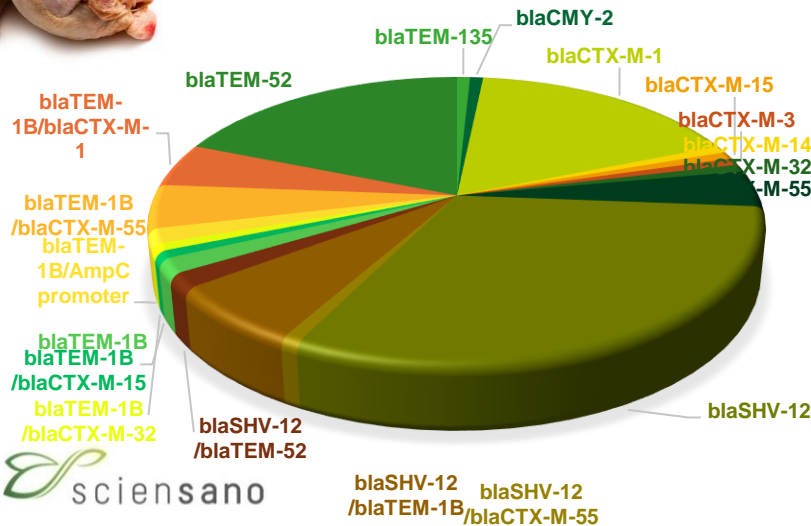
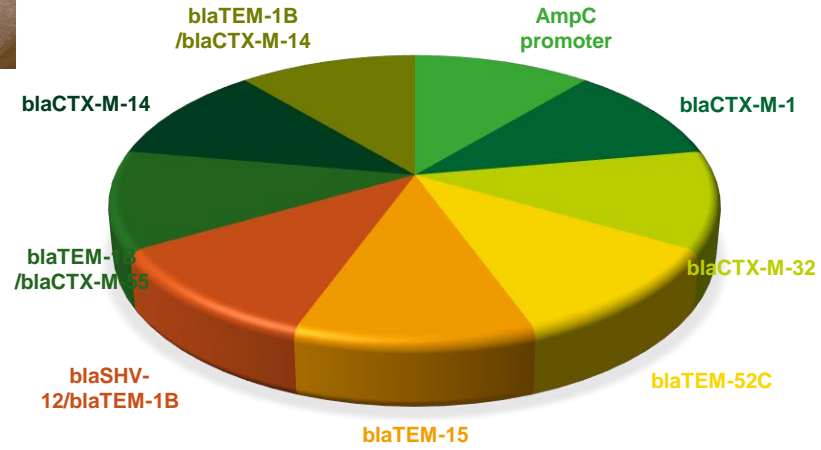
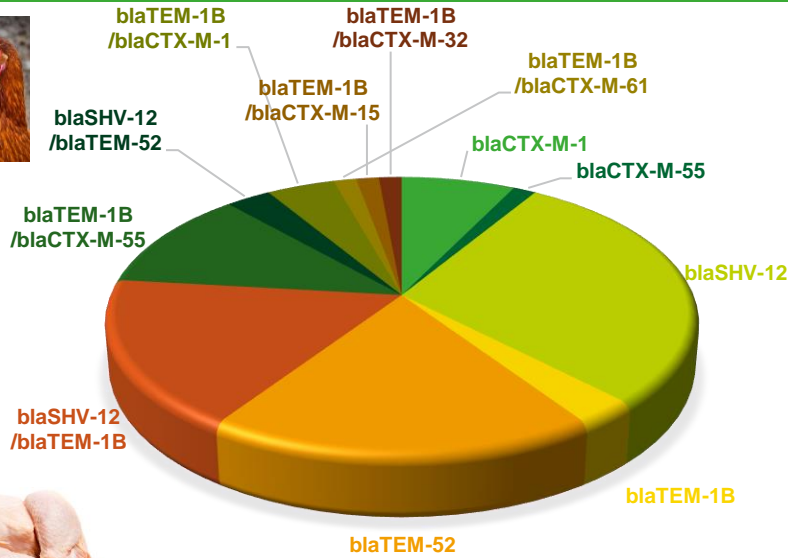
Tous les isolats ont été confirmés en tant que producteurs de BLSE, résistant aux céphalosporines de troisième génération.

Une grande diversité de lignées d'*E. coli* BLSE a été retrouvée dans chaque catégorie d'animaux.

En ce qui concerne la co-résistance aux CIA (Cip, Azi, Col, Tig) la présence de gènes PMQR chez la volaille est critique, tandis que la résistance plasmidique à la colistine est très faible.

Des gènes de R aux AB non utilisés, comme le chloramphénicol chez la volaille, ont été retrouvés ainsi que des gènes de résistance aux désinfectants.

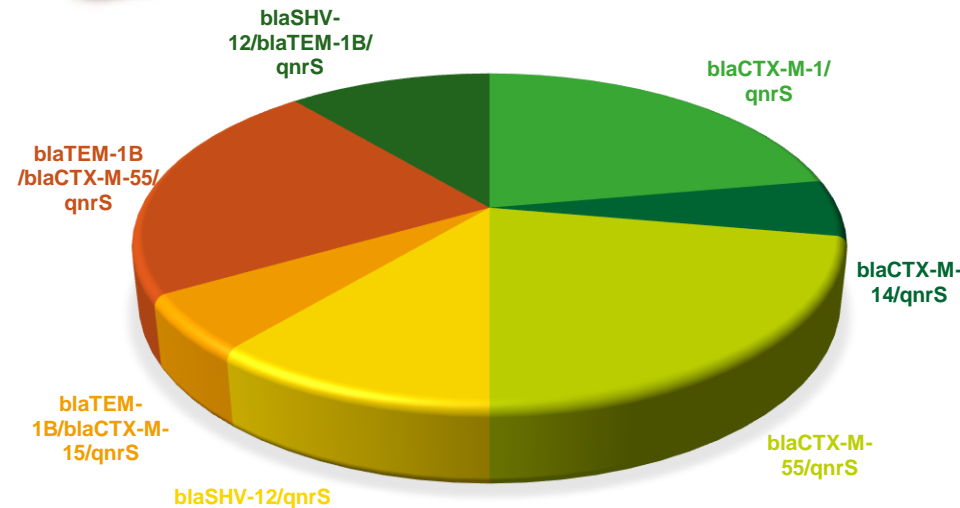
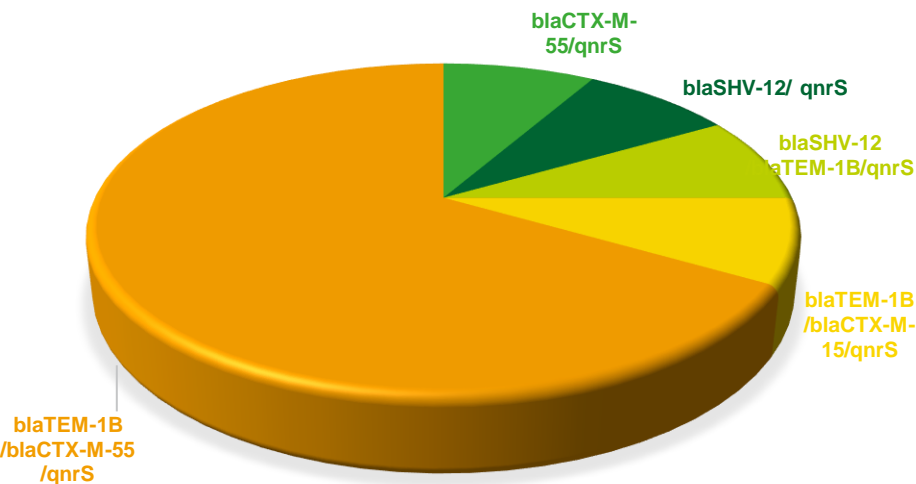
# Gènes de resistance associés aux BLSE





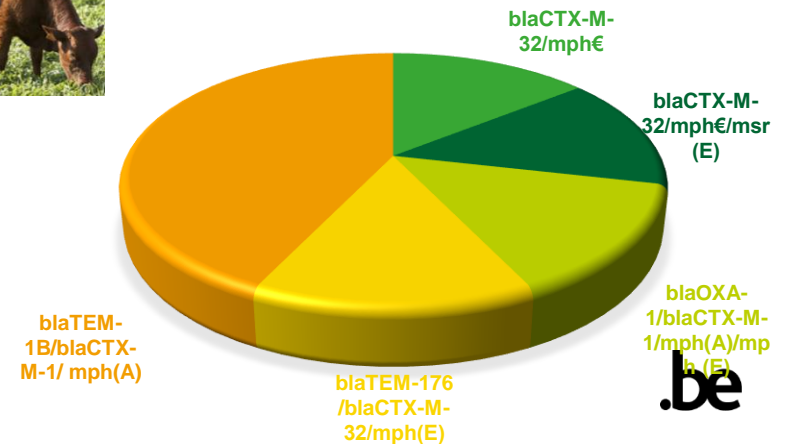
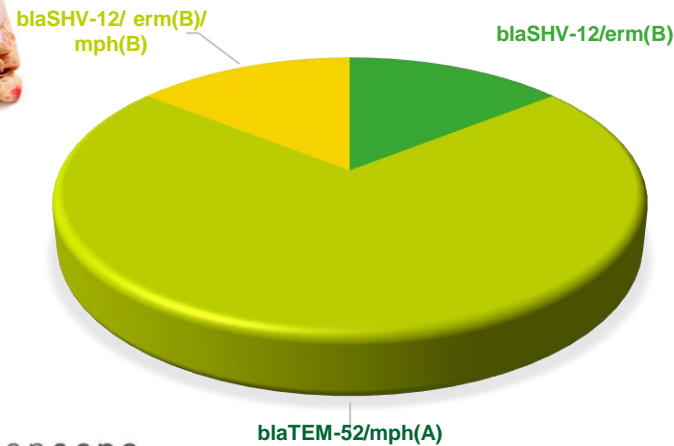
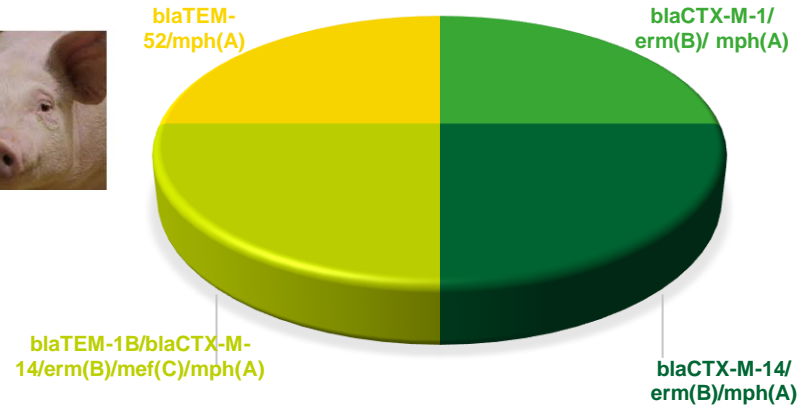
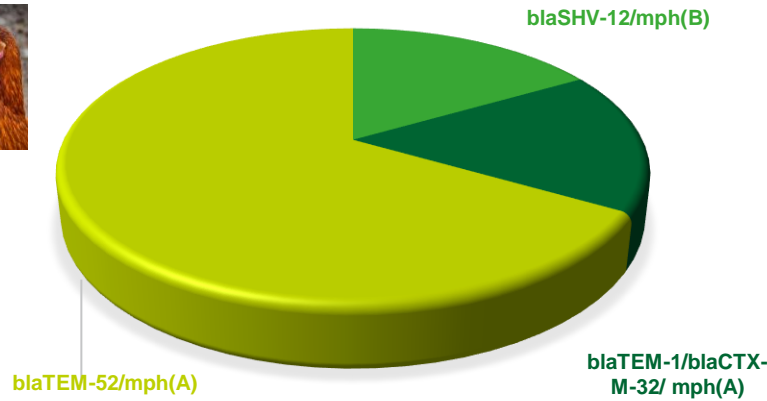
# Co-R aux Fluoroquinolones

Les gènes PMQR ont été retrouvés dans la volaille (20%), la viande de volaille (14,7%) et le porc (11%) et sont absents dans les veaux et dans la viande de porc et de boeuf

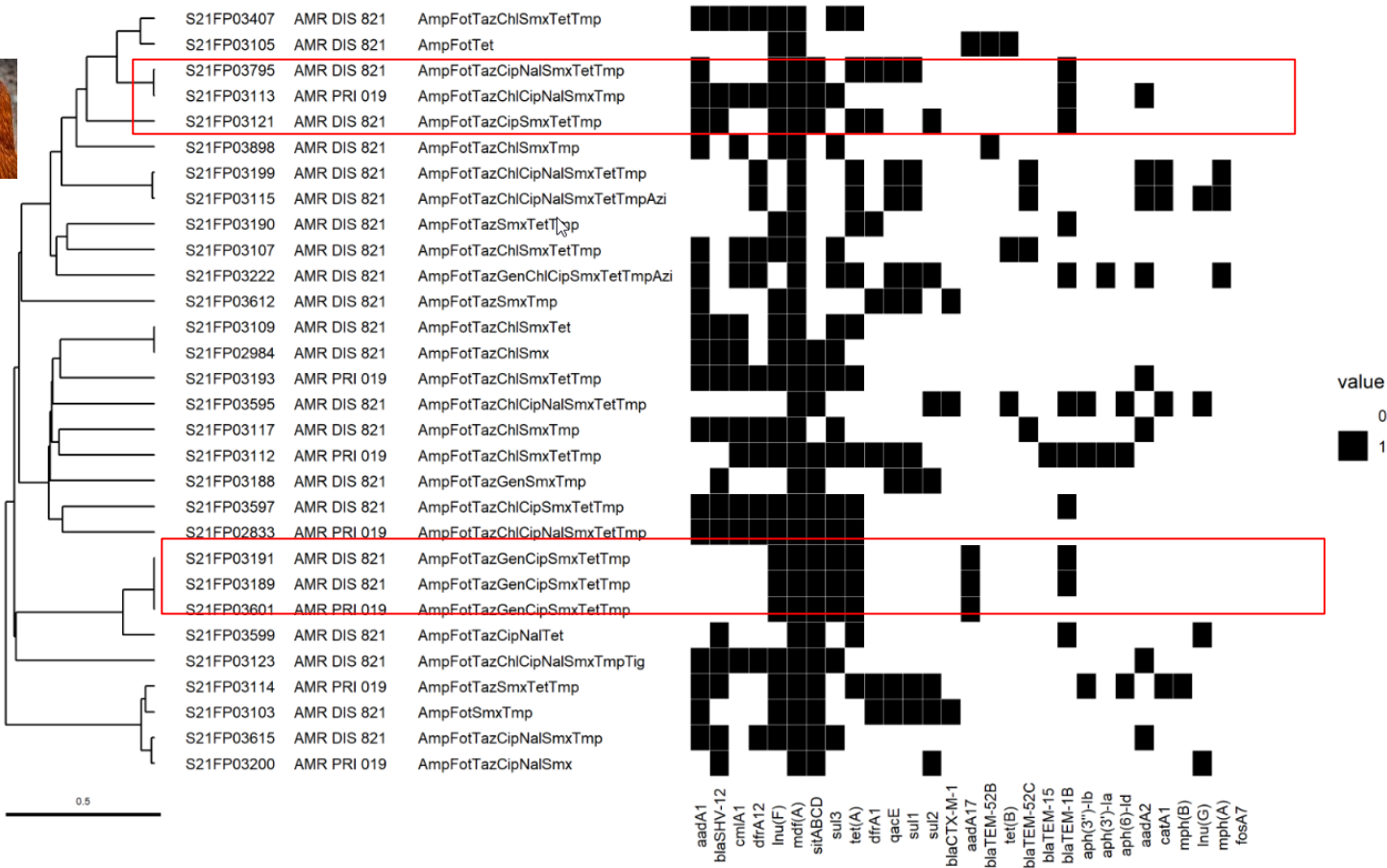


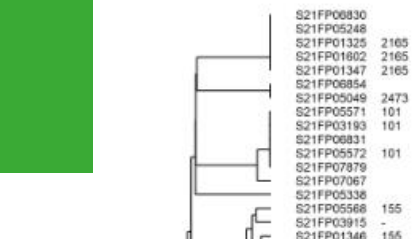
# Co-R à l'Azithromycine

Chez les *E. coli* ESBL, les gènes de résistance à l'Azithromycine ont été retrouvés dans les veaux (63,63%), les porcs (44,4%), les poulets de chair (8%) et la viande de poulet de chair (5,73%).

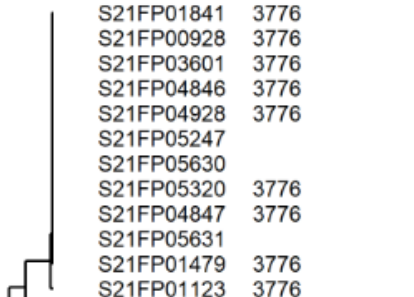


# Cluster analysis: Poulet de chair et viande fraiche de poulet de chair





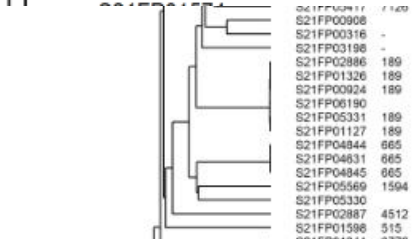
S21FP06830 AmpFotTazChlCipSmxTetTmp  
 S21FP05248 AmpFotTazChlCipSmxTetTmp  
 S21FP01325 2165 AmpFotTazChlCipSmxTetTmp  
 S21FP01602 2165 AmpFotTazChlCipSmxTetTmp  
 S21FP01347 2165 AmpFotTazChlCipSmxTetTmp  
 S21FP06854 AmpFotTazCipNal  
 S21FP05049 2473 AmpFotTazCipNal  
 S21FP05571 101 AmpFotTazChlCipSmxTetTmp  
 S21FP03193 101 AmpFotTazChlCipSmxTetTmp  
 S21FP06831 AmpFotTazChlCipSmxTetTmp  
 S21FP05572 101 AmpFotTazChlCipSmxTetTmp  
 S21FP07879 AmpFotTazChlCipSmxTetTmp  
 S21FP07067 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmp  
 S21FP05336 AmpFotTaz  
 S21FP05568 155 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmp  
 S21FP03915 AmpFotTazChlCipSmxTetTmp  
 S21FP01346 155 AmpFotTazSmxTetTmp



S21FP01841 3776 AmpFotTazGenCip  
 S21FP00928 3776 AmpFotTazGenCipTet  
 S21FP03601 3776 AmpFotTazGenCipSmxTetTmp  
 S21FP04846 3776 AmpFotTazGenCipSmxTetTmp  
 S21FP04928 3776 AmpFotTazGenCipSmxTetTmp  
 S21FP05247 AmpFotTazGenCipSmxTetTmp  
 S21FP05630 AmpFotTazGenCipSmxTetTmp  
 S21FP05320 3776 AmpFotTazGenCipSmxTetTmp  
 S21FP04847 3776 AmpFotTazGenCipSmxTetTmp  
 S21FP05631 AmpFotTazGenCipSmxTetTmp  
 S21FP01479 3776 AmpFotTazCipSmxTetTmp  
 S21FP01123 3776 AmpFotTazCip



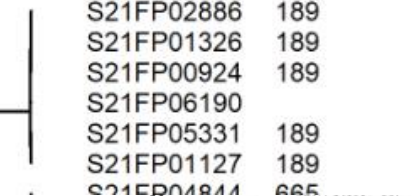
blaCTX-M-55,  
 blaTEM-1B, aadA17  
 lnu(F), mdf(A),  
 qnrS1, sul3, tet(A),  
 aac(3)-IId\_1, sitABCD



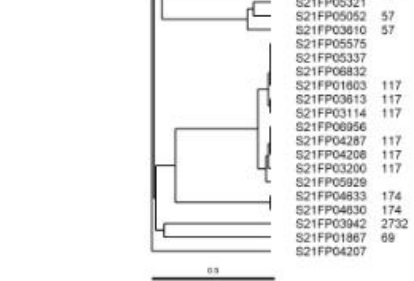
S21FP00906 AmpFotTazCipNalSmxTetTmp  
 S21FP00316 AmpFotTaz  
 S21FP03198 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmp  
 S21FP02886 189 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmpAzi  
 S21FP01326 189 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmpAzi  
 S21FP00924 189 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmpAzi  
 S21FP06190 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmpAzi  
 S21FP05331 189 AmpFotTazChlCipNalTet  
 S21FP01127 189 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmp  
 S21FP04844 665 AmpFotTazCipNalSmxTetTmp  
 S21FP04631 665 AmpFotTazCipNalSmxTetTmp  
 S21FP04845 665 AmpFotTazCipNalSmxTetTmp  
 S21FP05569 1594 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmp  
 S21FP05330 AmpFotTazSmxTetTmp  
 S21FP02887 4512 AmpFotTazCipNalTet  
 S21FP01596 515 AmpFotTazCipNalSmxTetTmp



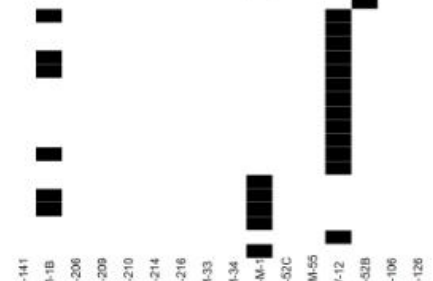
blaTEM-52C, catA1,  
 dfrA12, lnu(G), mdf(A),  
 mph(A), qacE, sul1,  
 tet(A), gyr (A)



S21FP02886 189 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmpAzi  
 S21FP01326 189 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmpAzi  
 S21FP00924 189 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmpAzi  
 S21FP06190 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmpAzi  
 S21FP05331 189 AmpFotTazChlCipNalTet  
 S21FP01127 189 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmp  
 S21FP04844 665 AmpFotTazCipNalSmxTetTmp



S21FP05321 AmpFotTaz  
 S21FP05052 57 AmpFotTazCipSmxTetTmp  
 S21FP03610 57 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmp  
 S21FP05575 AmpFotTazSmxTetTmp  
 S21FP05337 AmpFotTazSmxTetTmp  
 S21FP06832 AmpFotTazSmxTetTmp  
 S21FP01603 117 AmpFotTazSmxTetTmp  
 S21FP03613 117 AmpFotTazSmxTetTmp  
 S21FP03114 117 AmpFotTazSmxTetTmp  
 S21FP06956 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmp  
 S21FP04287 117 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmp  
 S21FP04206 117 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmp  
 S21FP03200 117 AmpFotTazCipNalSmx  
 S21FP05929 AmpFotTazCipNalSmxTetTmp  
 S21FP04633 174 AmpFotTazCipSmxTetTmp  
 S21FP04630 174 AmpFotTazSmxTetTmp  
 S21FP03942 2732 AmpFotTazSmxTetTmp  
 S21FP01867 69 AmpFotTaz  
 S21FP04207 AmpFotCipNalSmxTetTmp



value  
 0  
 1

# Conclusions



La résistance aux céphalosporines de 3ème/4ème génération a été confirmée par WGS



Les gènes de résistance *CTX-M G1*, *SHV-12* et *TEM-52* sont les plus prévalents



Aucun gène de résistance aux carbapénèmes, ni à la tigécycline n'a été retrouvé



La résistance à la ciprofloxacine est associée au gène plasmidique *QnrS* tandis que la résistance à la ciprofloxacine et à l'acide nalidixique est associée aux mutations chromosomiques (*gyrA*, *parC*)



Le gène de résistance *mcr 1.1* a rarement été retrouvé chez les *E. coli* BLSE excepté dans la viande de boeuf

# RÉSULTATS DU SÉQUENÇAGE DES MRSA ET ENTEROCOQUES

# Investigation par NGS de 5 HA-MRSA isolées de vaches laitières et de bovins viandeux en 2021

- Le génotype **ST239-t037** est associé aux **HA-MRSA** et est distribué mondialement
- **En 2021, 5 isolats CC8-ST239-t037: 3 de vaches laitières et 2 de bovins viandeux**
  - Portaient les mêmes **gènes de virulence**:
    - *sak* et *scn* associés au **cluster d'évasion immunitaire**
    - plusieurs gènes associés à des **toxines** (*hlgA*, *hlgB*, *hlgC*, *lukD*, *lukE*, *sea*, *sek*, *seq*, *selw* et *selx*) et **exoenzymes** (*aur*, *splA*, *splB* et *splE*)
    - négatifs pour PVL
  - Présentait des profils **cgMLST** très similaires
  - Même profil phénotypique de résistance: STR-SMX-RIF-PEN-CHL-ERY-FOX-KAN-TET
    - Il s'agit des seuls isolats de **MRSA** du monitoring de **2021** résistants à la **rifampicine** (2 mutations observées dans tous ces isolats)

# Investigation par NGS d'une CA-MRSA chez les veaux de boucherie en 2021

- **1 isolat de veaux de boucherie** avec un génotype **CA-MRSA: CC1/ST1 t386**
  - Genotype déjà rapporté dans la littérature:
    - **hôpitaux** (Palestine, Hadyeh et al., 2019)
    - un **hérisson** européen (Ruiz-Ripa et al., 2019)
    - Dans d'autres isolats d'animaux et d'humains en **Europe et au Moyen-Orient** (Earls et al 2021)
  - Portait plusieurs **gènes de virulence**:
    - *sak* et *scn* associés au **cluster d'évasion immunitaire**
    - **plusieurs gènes** associés à des **toxines** (*hlgA*, *hlgB*, *hlgC*, *lukD*, *lukE*, *seh*, *selw* et *selx*) et **exoenzymes** (*aur*, *splA* et *splB*).
    - négatif pour PVL



# Investigation par NGS de résistances observées chez les entérocoques en 2021

## • Résistance au **linézolide** :

- 12 souches séquencées (10 *E. faecalis*, isolées de veaux (n=8), poulets de chair (n=1) et de poules reproductrices (n=1) et 2 *E. faecium*, isolées de porcs (n=1) et veaux (n=1)) sur 14 souches **LZD-R** (12 *E. faecalis* + 2 *E. faecium*) en 2021

### • Génotypes observés:

- *optrA* observé chez *E. faecalis*
- *optrA/poxxA* observé chez *E. faecium*

### • !/\ Résistances croisées :

<i>optrA</i>	<i>poxxA</i>
phénicol	phénicol
	tétracycline

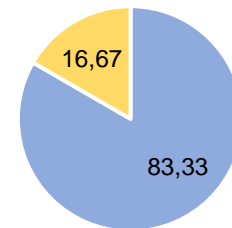
## • Résistance à la **vancomycine** :

- Présence du cluster *vanA* chez 1 *E. faecalis* **VAN-R** isolée de veaux
- Présence du cluster *vanA* chez 1 *E. faecium* **VAN-S** (MIC=4, valeur cutoff) isolée de veaux

## • Résistance **aux désinfectants** :

- Présence de *clpL* chez 7 *E. faecalis* isolées de veaux

Genotypes (%) observés parmi les entérocoques résistants au linézolide (n=12)



■ *optrA* ■ *optrA/poxxA*



# MERCI POUR VOTRE ATTENTION

Contact: Sciensano  
Pathogènes alimentaires  
Francois.Bricteux@sciensano.be  
MariaCristina.GarciaGraells@sciensano.be  
Bactériologie Vétérinaire  
Cecile.Boland@sciensano.be  
Carole.Kowalewicz@sciensano.be