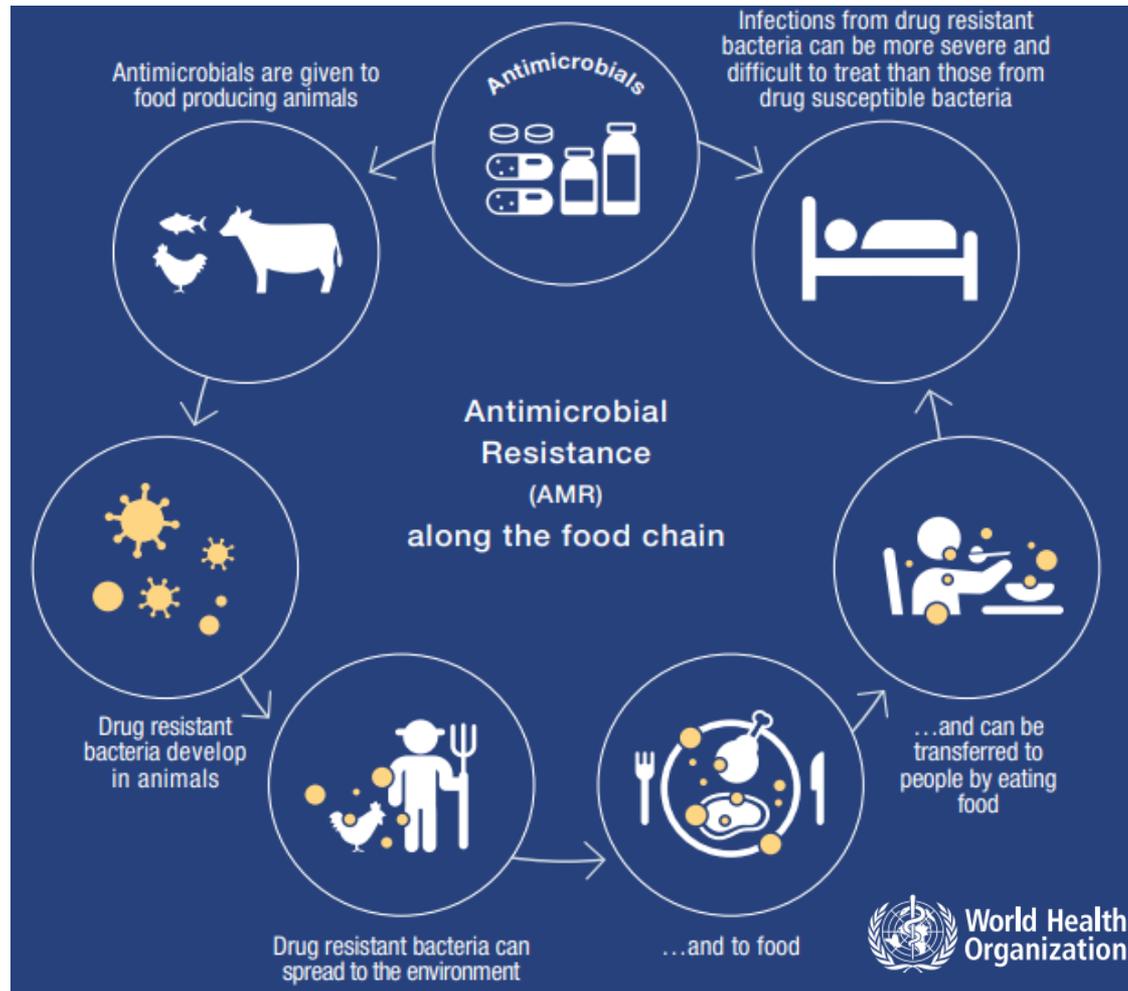


SURVEILLANCE DE LA RÉSISTANCE AUX ANTIMICROBIENS CHEZ *E.COLI* (ESBL) DANS LES DENRÉES ALIMENTAIRES ET LA PRODUCTION PRIMAIRE

L'AMR dans la chaîne alimentaire



Décision d'exécution (UE) 2020/1729

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

<i>E.coli & Salmonella</i> spp.		<i>Campylobacter</i> spp.	
Amikacine	→ Aminoglycoside	Ertapénème	→ Carbapénème
Céfotaxime		Chloramphenicol	→ Phénicol
Ceftazidime		Ciprofloxacine	
Ampicilline		Erythromycine	
Tétracycline		Tétracycline	
Ciprofloxacine		Gentamicine	
Acide Nalidixique		Acide nalidixique	
Sulfaméthoxazole		Streptomycine	
Gentamicine			
Méropénème			
Trimethoprime			
Chloramphenicol			
Colistine			
Azithromycine			
Tigecycline			

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	
Critically Important	CRITICALLY IMPORTANT ANTIMICROBIALS
	<i>HIGHEST PRIORITY</i>
	<i>Cephalosporins (3rd, 4th and 5th 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 β-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

Triméthoprime

Chloramphénicol

Colistine

Azithromycine

Tigécycline

Campylobacter spp.

Ertapénème

Chloramphénicol

Ciprofloxacine

Tétracycline

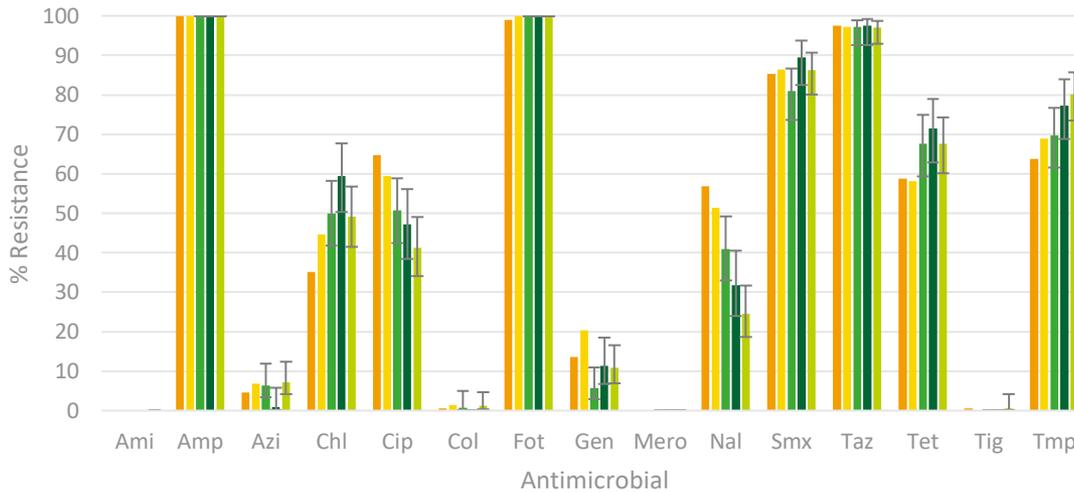
Gentamicine

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 β -lactamases, ou de carbapénémases dans la viande de volaille

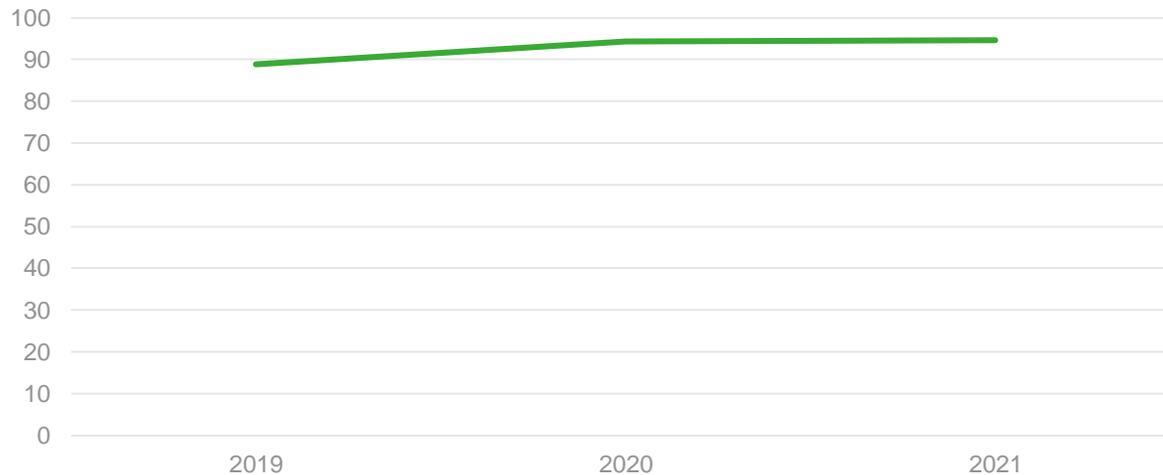


2017 2018 2019 2020 2021

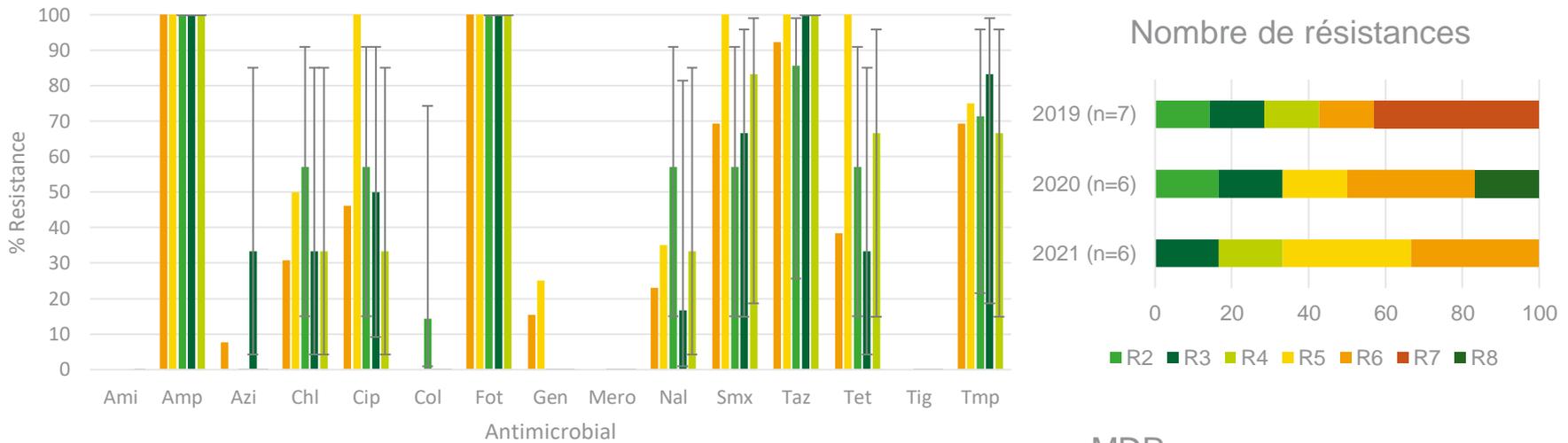
Nombre de résistances



MDR



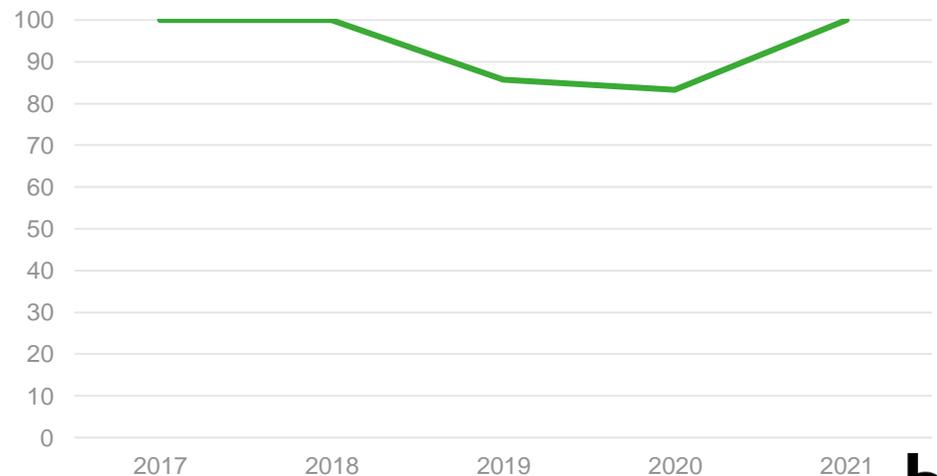
Surveillance spécifique des bactéries *E. coli* productrices de β -lactamases, ou de carbapénémases dans la viande de porc



Nombre de résistances



MDR

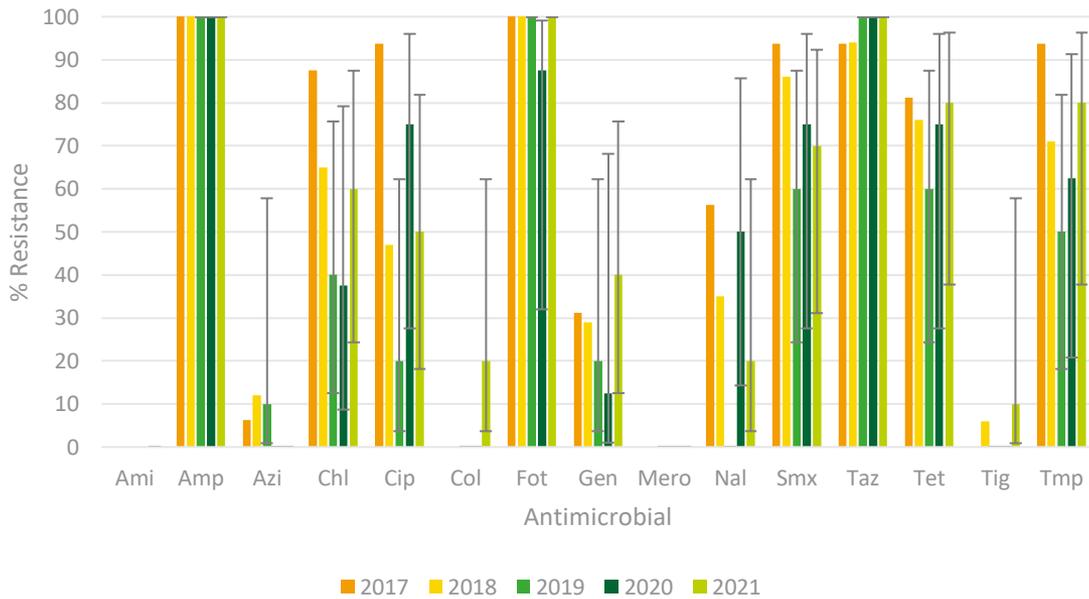


! Faible prévalence

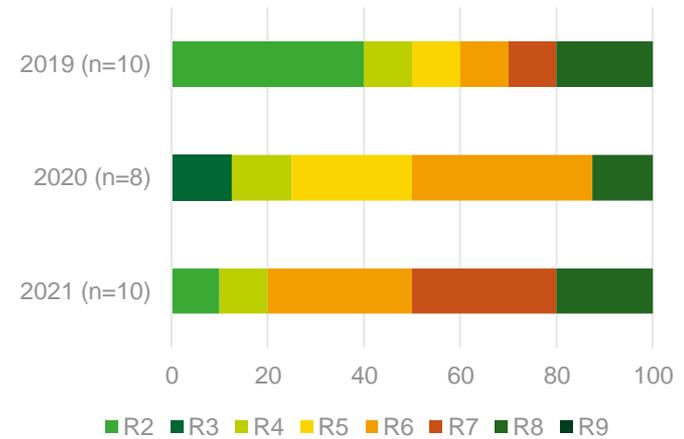
100% MDR

Pas de souches R7/R8 en 2021

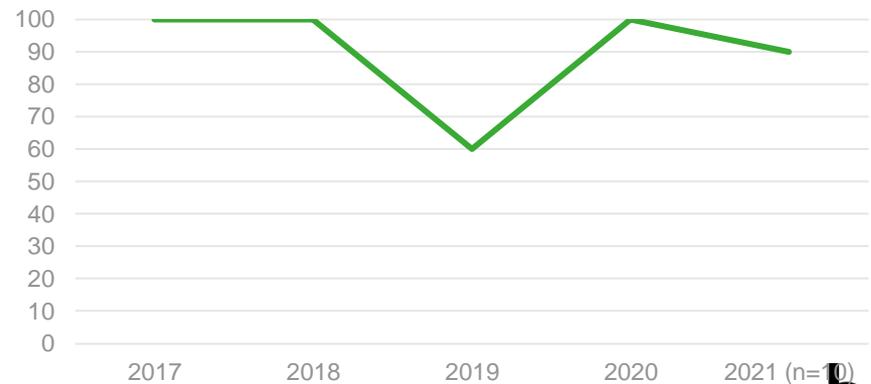
Surveillance spécifique des bactéries *E. coli* productrices de β -lactamases, ou de carbapénémases dans la viande de boeuf



Nombre de résistances

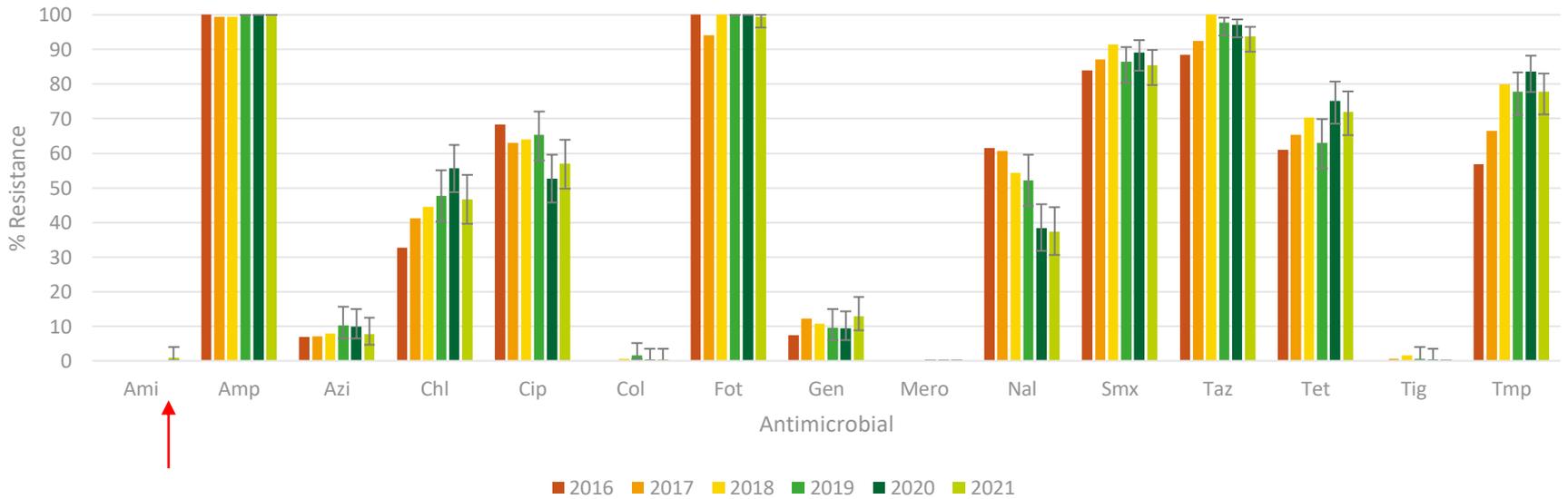


MDR

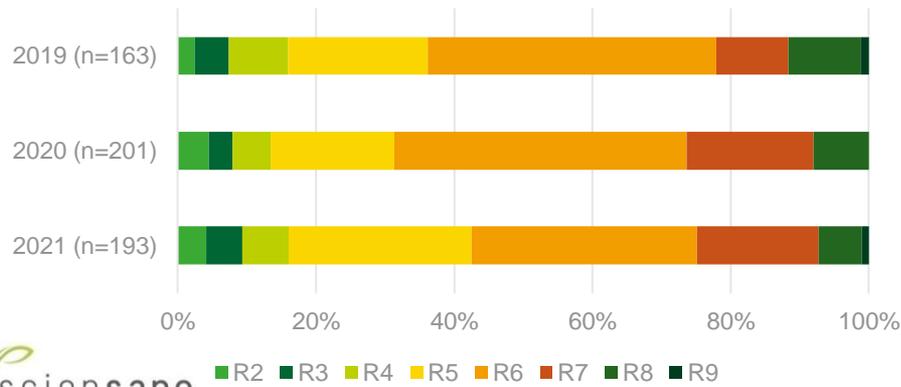


! Faible prévalence

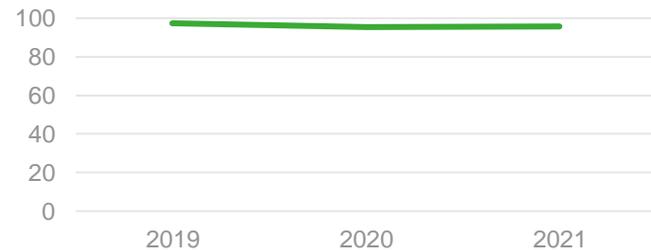
Surveillance spécifique des bactéries *E. coli* productrices de β -lactamases, ou de carbapénémases dans la matière fécale de poulets de chair



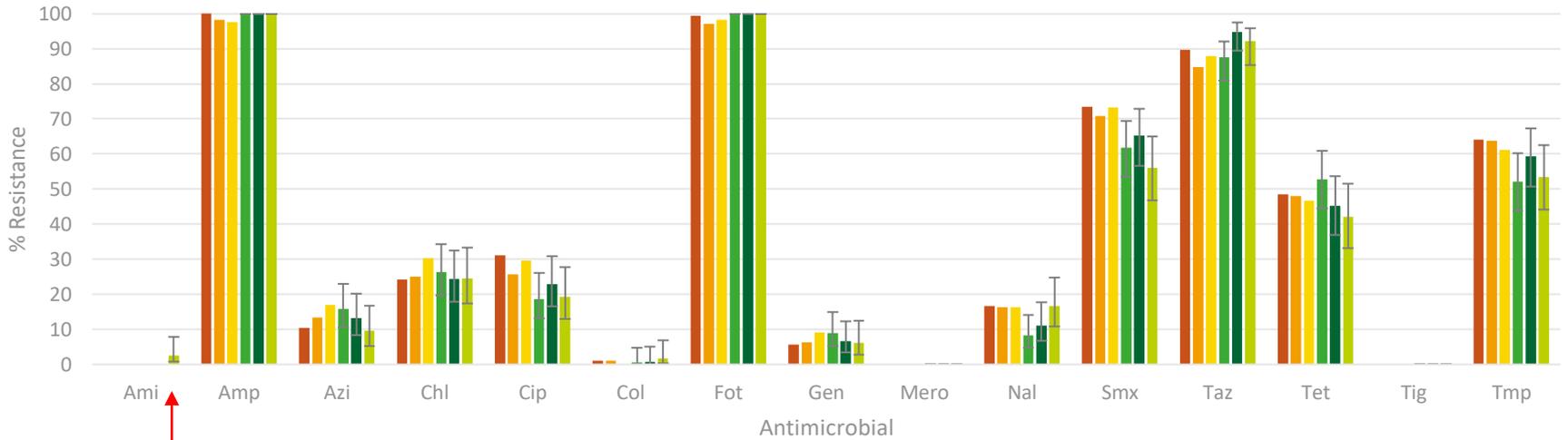
Nombre de résistances



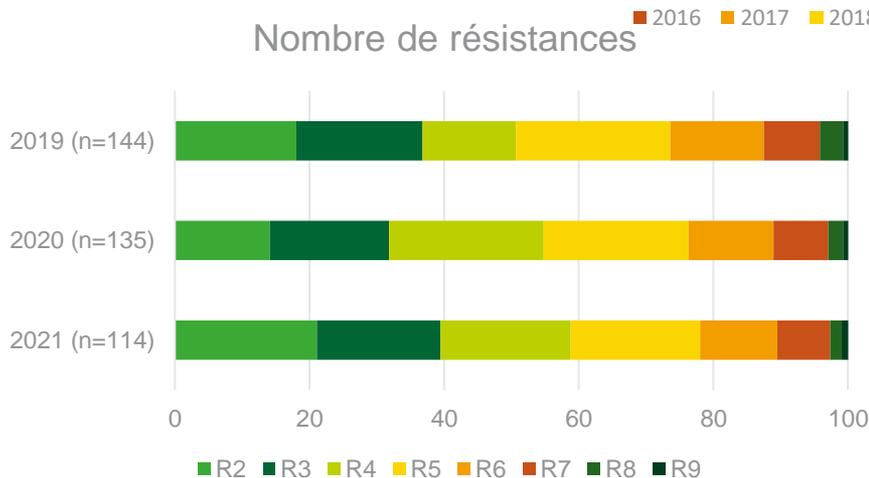
MDR



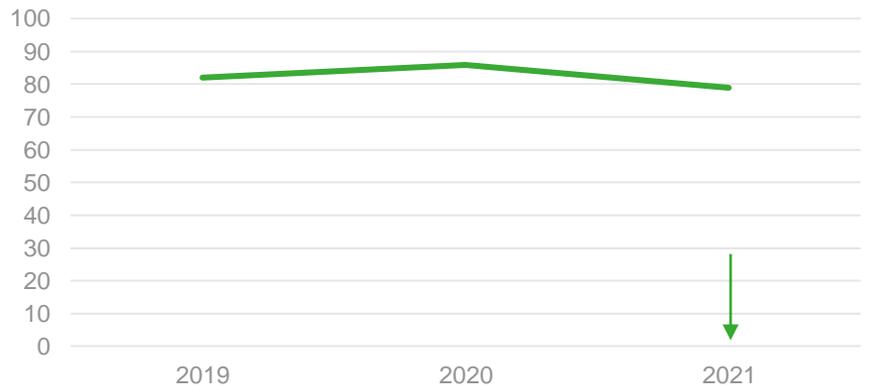
Surveillance spécifique des bactéries *E. coli* productrices de β -lactamases, ou de carbapénémases dans la matière fécale de porc



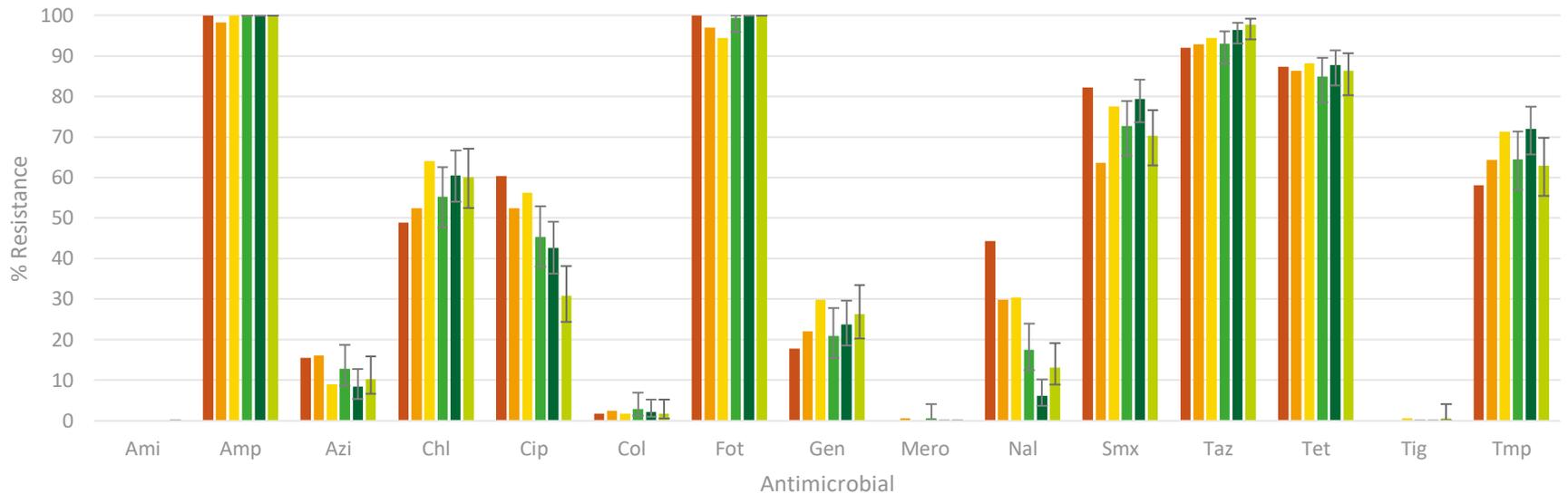
Nombre de résistances



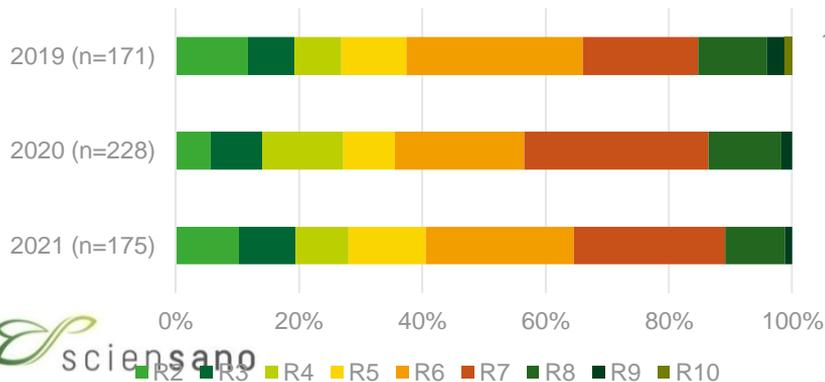
MDR



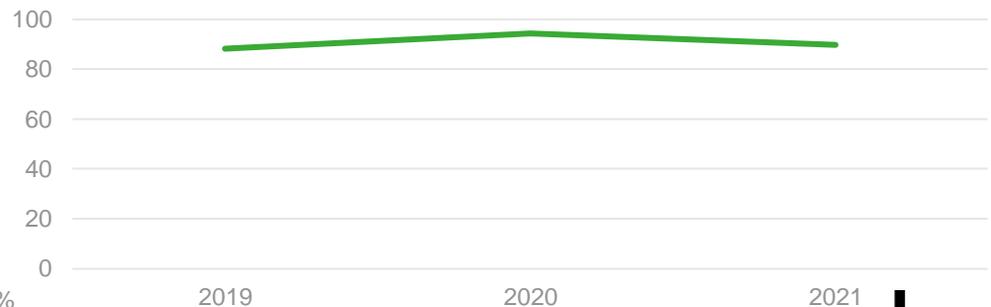
Surveillance spécifique des bactéries *E. coli* productrices de β -lactamases, ou de carbapénémases dans la matière fécale de bovins



Nombre de résistances



MDR



RÉSULTATS DU SÉQUENÇAGE DES *E. COLI* BLSE

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

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.

Whole genome sequencing shows promise in fight against AMR

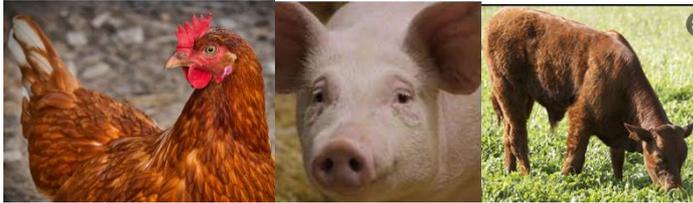
Published: 5 June 2019



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.

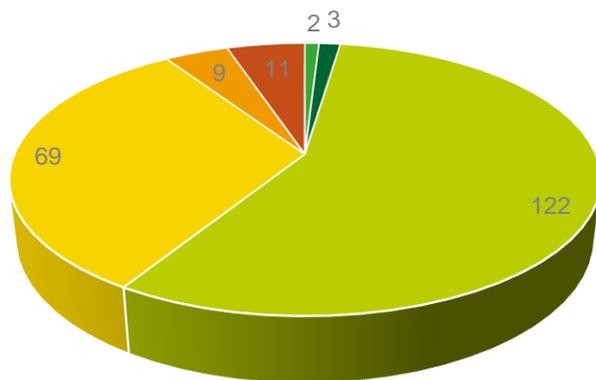
ResFinder and Pointfinder software: (2022-03-10)
ResFinder database: EFSA_2021 (2022-05-24)
Pointfinder database: (2021-02-01)

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 β -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



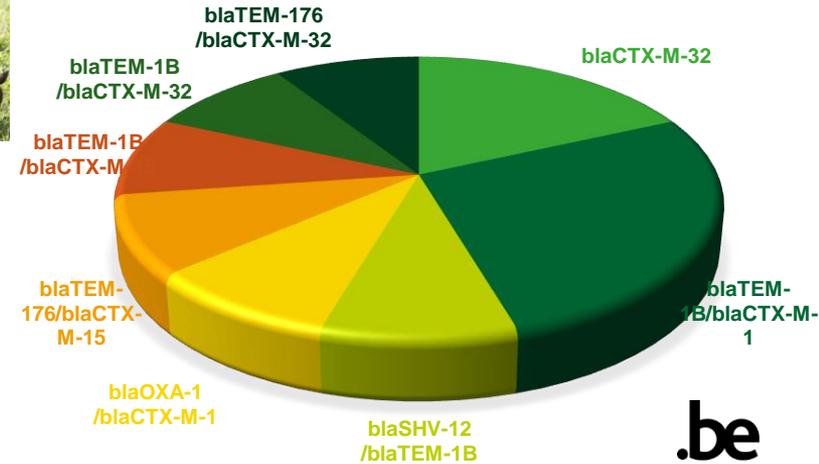
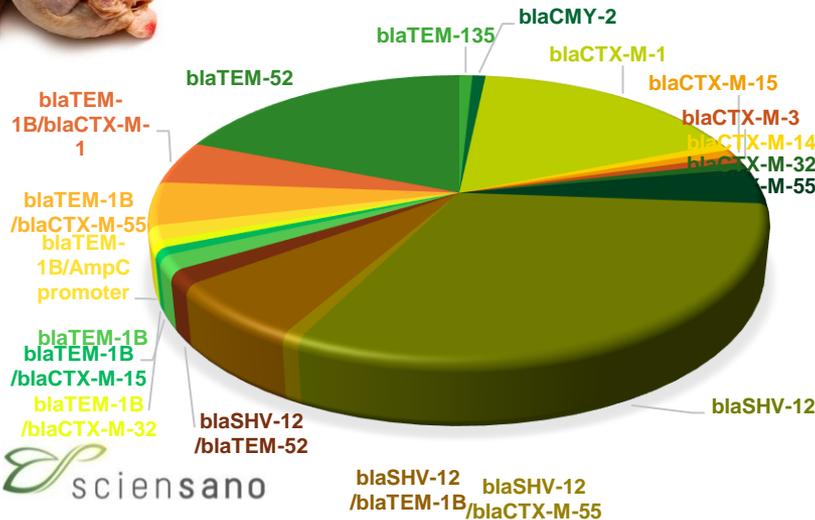
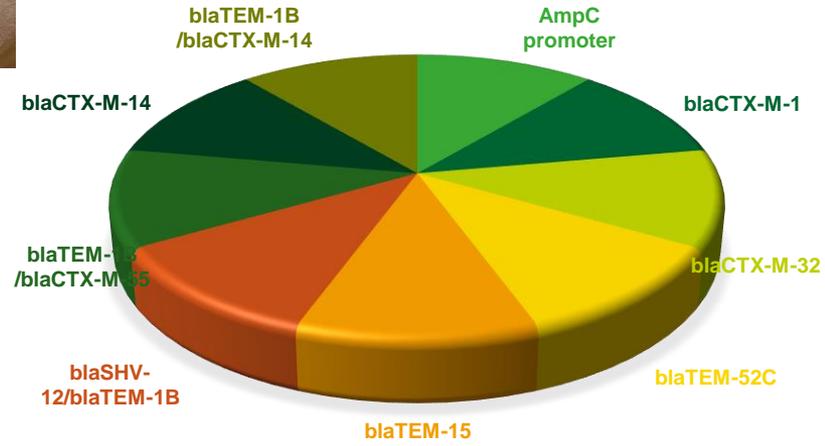
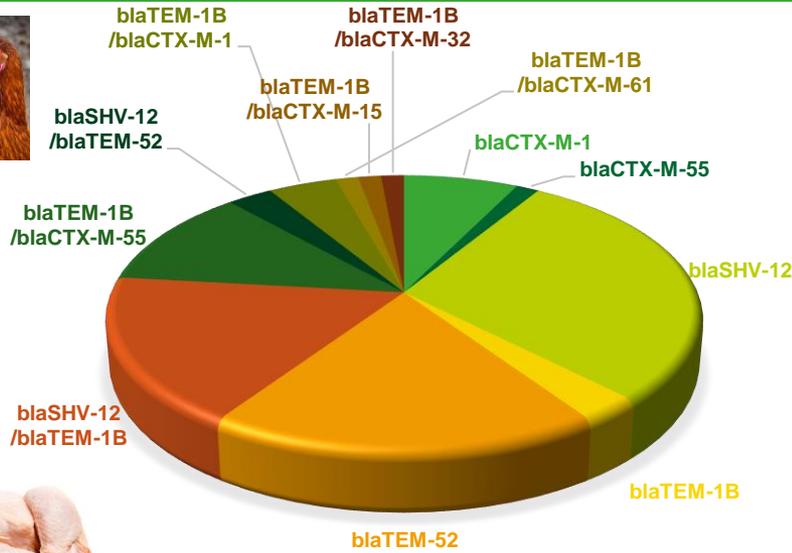
Tous les isolats ont été confirmés en tant que producteurs de BLSE, résistant aux céphalosporines de troisième génération.

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.

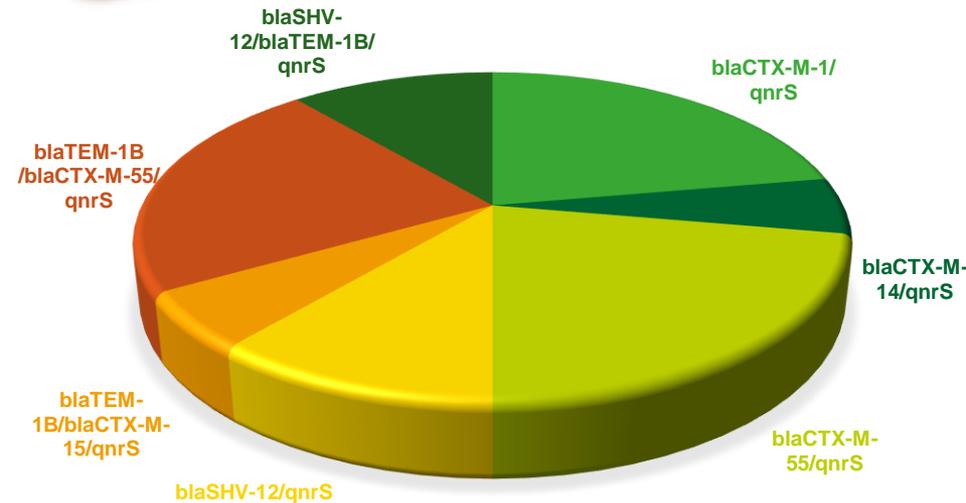
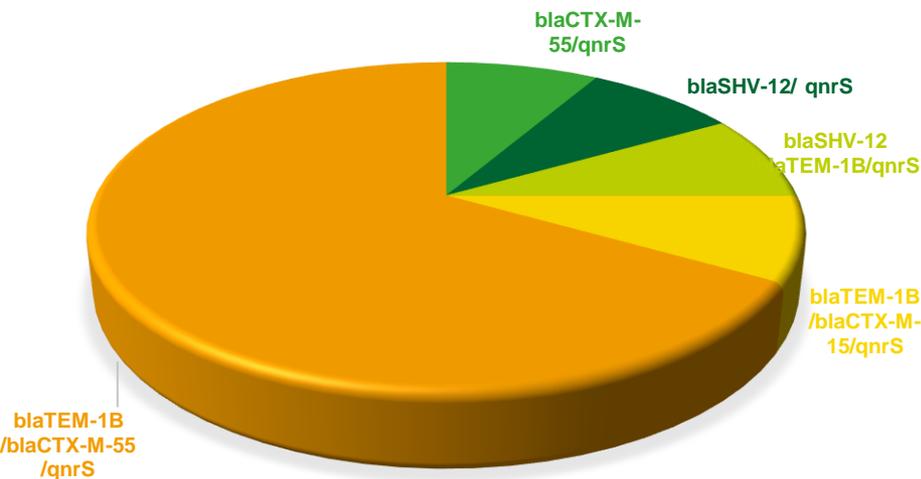
Des gènes de résistance aux antibiotiques non utilisés, comme le chloramphénicol chez la volaille, ont été retrouvés ainsi que des gènes de résistance aux désinfectants.

Gènes de resistance associés aux BLSE



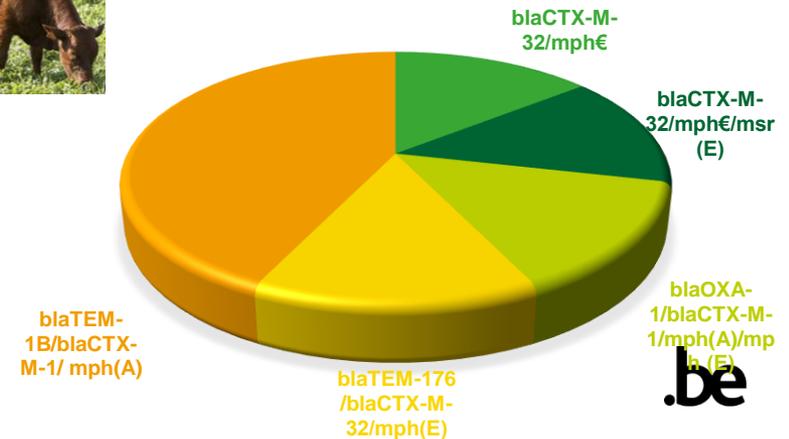
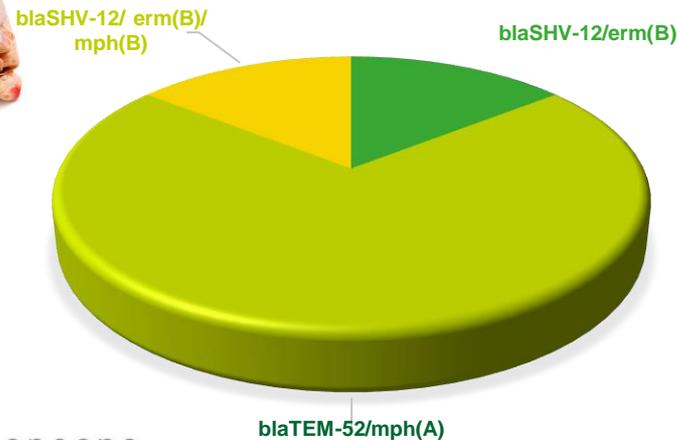
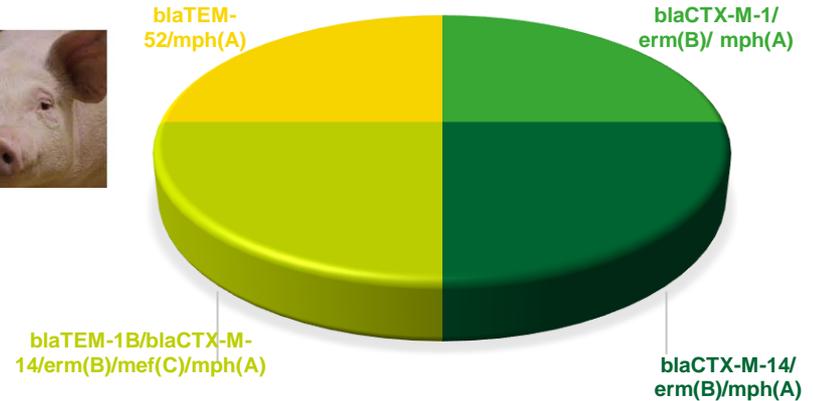
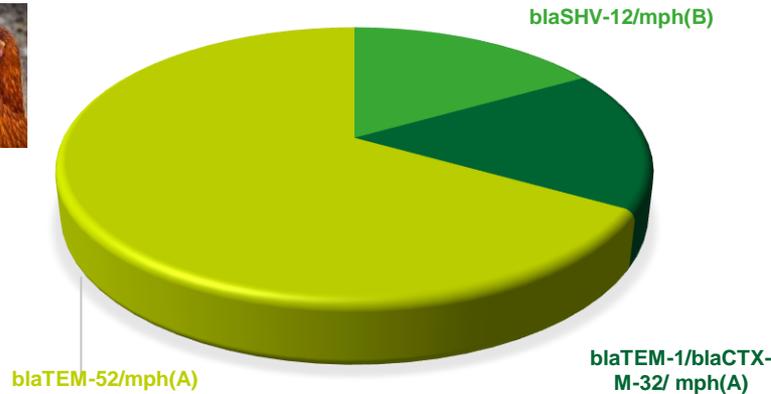
Co-R aux Fluoroquinolones

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

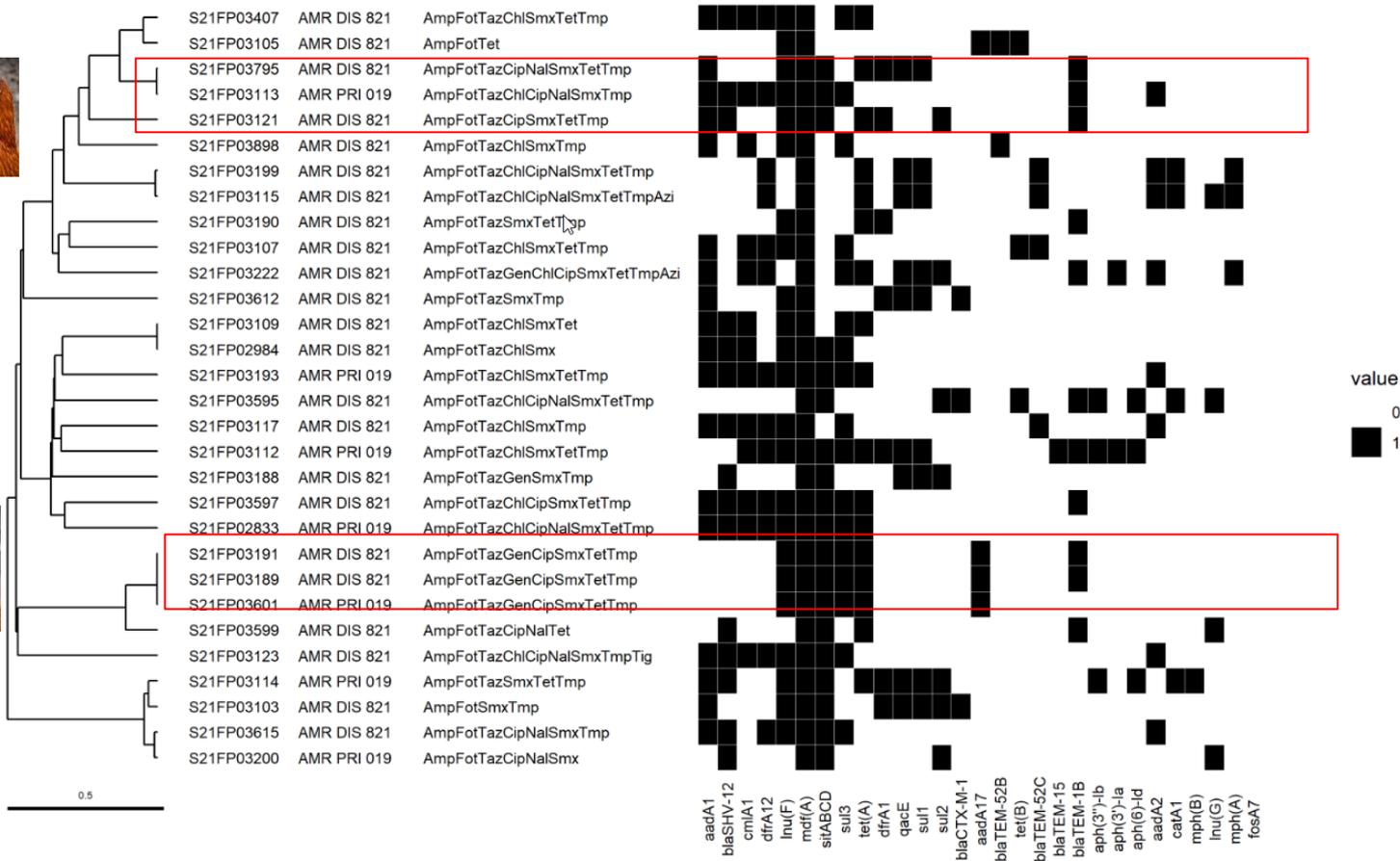


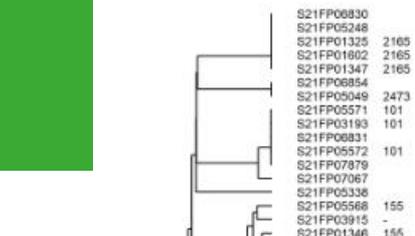
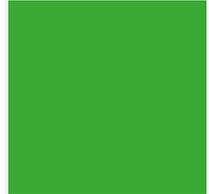
Co-R à l'Azithromycine

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	
S21FP05248	
S21FP01325	2165
S21FP01602	2165
S21FP01347	2165
S21FP06854	
S21FP05049	2473
S21FP05571	101
S21FP03193	101
S21FP06831	
S21FP05572	101
S21FP07879	
S21FP07067	
S21FP05336	
S21FP05568	155
S21FP03915	-
S21FP01346	155

AmpFotTazChlCipSmxTetTmp
 AmpFotTazChlCipSmxTetTmp
 AmpFotTazChlCipSmxTetTmp
 AmpFotTazChlCipSmxTetTmp
 AmpFotTazCipNal
 AmpFotTazCipNal
 AmpFotTazChlSmxTetTmp
 AmpFotTazChlSmxTetTmp
 AmpFotTazChlSmxTetTmp
 AmpFotTazChlSmxTetTmp
 AmpFotTazChlSmxTetTmp
 AmpFotTazChlCipNalSmxTmp
 AmpFotTaz
 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmp
 AmpFotTazChlSmxTet
 AmpFotTazSmxTetTmp



S21FP01841	3776
S21FP00928	3776
S21FP03601	3776
S21FP04846	3776
S21FP04928	3776
S21FP05247	
S21FP05630	
S21FP05320	3776
S21FP04847	3776
S21FP05631	
S21FP01479	3776
S21FP01123	3776

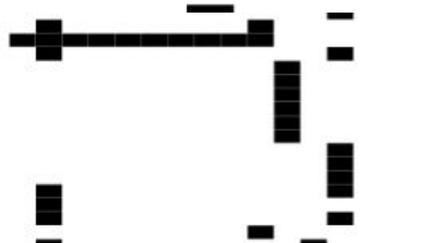
AmpFotTazGenCip
 AmpFotTazGenCipTet
 AmpFotTazGenCipSmxTetTmp
 AmpFotTazGenCipSmxTetTmp
 AmpFotTazGenCipSmxTetTmp
 AmpFotTazGenCipSmxTetTmp
 AmpFotTazGenCipSmxTetTmp
 AmpFotTazGenCipSmxTetTmp
 AmpFotTazGenCipSmxTetTmp
 AmpFotTazGenCipSmxTetTmp
 AmpFotTazGenCipSmxTetTmp
 AmpFotTazCipSmxTetTmp
 AmpFotTazCip

blaCTX-M-55,
 blaTEM-1B, aadA17
 lnu(F), mdf(A),
 qnrS1, sul3, tet(A),
 aac(3)-Ild_1, sitABCD



S21FP00906	-
S21FP00316	-
S21FP00319	-
S21FP02886	189
S21FP01326	189
S21FP00924	189
S21FP06190	
S21FP05331	189
S21FP01127	189
S21FP04844	665
S21FP04631	665
S21FP04845	665
S21FP05569	1594
S21FP05330	
S21FP02887	4512
S21FP01596	515

AmpFotTazCipNalSmxTetTmp
 AmpFotTaz
 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmp
 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmpAzi
 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmpAzi
 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmpAzi
 AmpFotTazChlCipNalTet
 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmp
 AmpFotTazCipNalSmxTetTmp
 AmpFotTazCipNalSmxTetTmp
 AmpFotTazCipNalSmxTetTmp
 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmp
 AmpFotTazSmxTetTmp
 AmpFotTazCipNalTet
 AmpFotTazCipNalSmxTetTmp

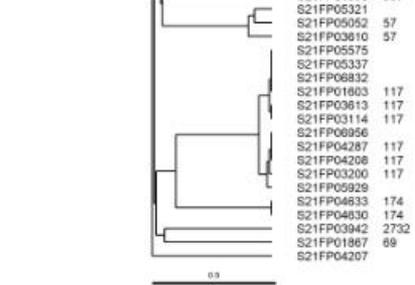


value
 0
 1

S21FP02886	189
S21FP01326	189
S21FP00924	189
S21FP06190	
S21FP05331	189
S21FP01127	189
S21FP04844	665

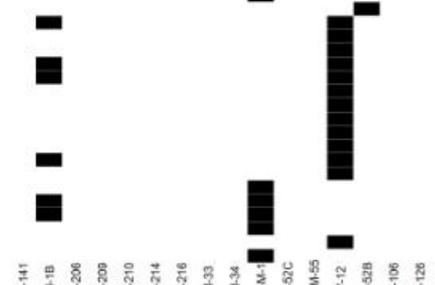
AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmpAzi
 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmpAzi
 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmpAzi
 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmpAzi
 AmpFotTazChlCipNalTet
 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmp
 AmpFotTazCipNalSmxTetTmp

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



S21FP05321	
S21FP05052	57
S21FP03610	57
S21FP05575	
S21FP05337	
S21FP06832	
S21FP01603	117
S21FP03613	117
S21FP03114	117
S21FP06956	
S21FP04287	117
S21FP04206	117
S21FP03200	117
S21FP05929	117
S21FP04633	174
S21FP04630	174
S21FP03942	2732
S21FP01867	69
S21FP04207	

AmpFotTaz
 AmpFotTazCipSmxTetTmp
 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmp
 AmpFotTazSmxTetTmp
 AmpFotTazSmxTetTmp
 AmpFotTazSmxTetTmp
 AmpFotTazSmxTetTmp
 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmp
 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmp
 AmpFotTazCipNalSmx
 AmpFotTazCipNalSmxTetTmp
 AmpFotTazCipSmxTet
 AmpFotTazSmxTetTmp
 AmpFotTazSmxTetTmp
 AmpFotTaz
 AmpFotCipNalSmxTetTmp



blaTEM-141
 blaTEM-1B
 blaTEM-206
 blaTEM-209
 blaTEM-210
 blaTEM-214
 blaTEM-216
 blaTEM-33
 blaTEM-34
 blaCTX-M-1
 blaTEM-52C
 blaSHV-12
 blaTEM-52B
 blaTEM-106
 blaTEM-126

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

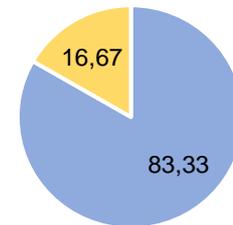
• Résistance à la **vancomycine** :

- 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