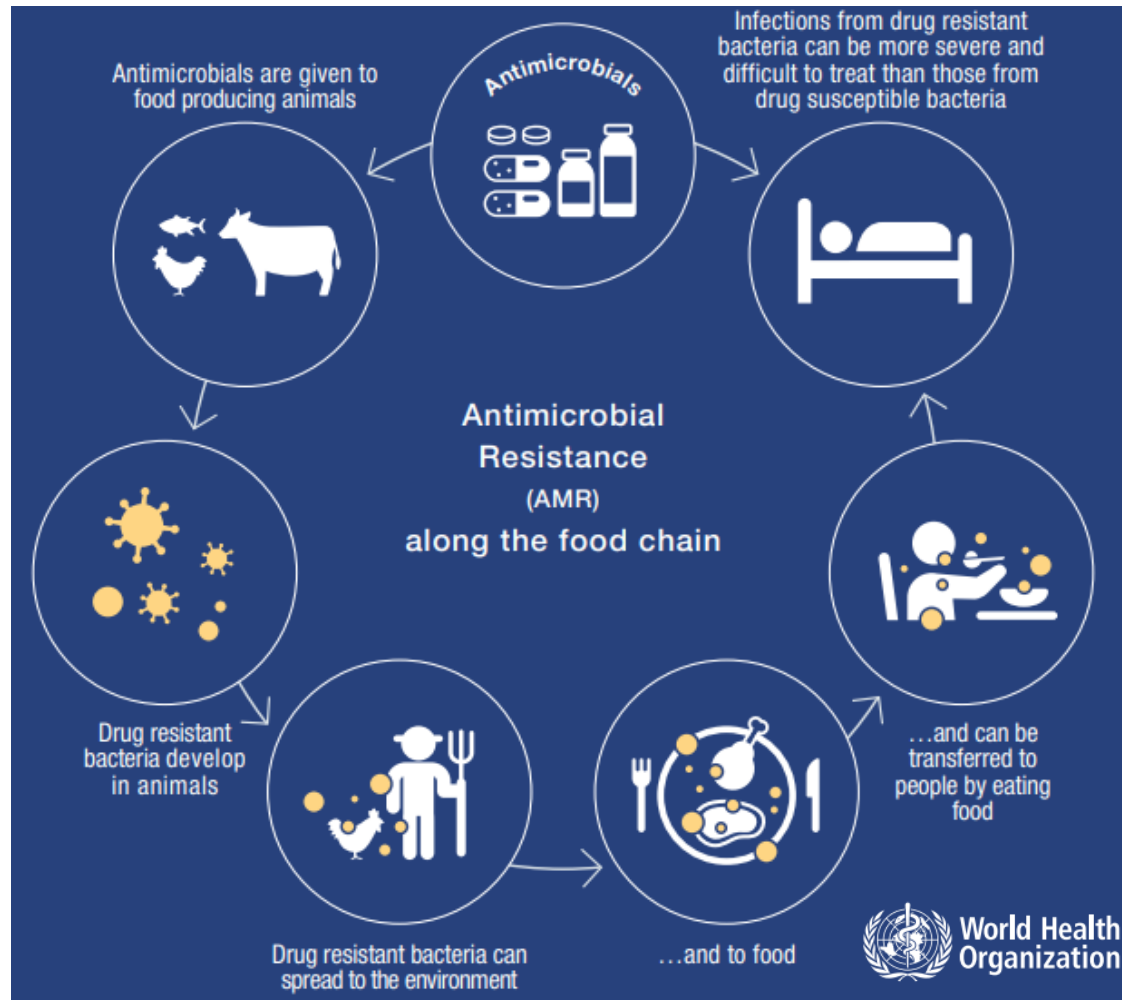


MONITORING VAN ANTIBIOTICUMRESISTENTIE BIJ *E.COLI* (ESBL) AFKOMSTIG VAN VOEDING EN VANUIT DE PRIMAIRE PRODUCTIE

AMR in de voedingsketen



Uitvoeringsbesluit (EU) 2020/1729

Uitvoeringsbesluit (EU) 2020/1729 van 17/11/2020

<i>E.coli & Salmonella</i> spp.		<i>Campylobacter</i> spp.	
Amikacine	→ Aminoglycoside	Ertapénème	→ Carbapenem
Cefotaxime		Chloramphenicol	→ Fenicol
Ceftazidime		Ciprofloxacine	
Ampicilline		Erythromycine	
Tetracycline		Tetracycline	
Ciprofloxacine		Gentamicine	
Nalidixinezuur		Nalidixinezuur	
Sulfamethoxazole		Streptomycine	
Gentamicine			
Meropenem			
Trimethoprim			
Chloramfenicol			
Colistine			
Azithromycine			
Tigecycline			

Monitoring van *Salmonella* op karkassen van dieren (varkens, vleeskalveren, pluimvee) geschraapt

Monitoring van verschillende antibiotica

AMR monitoring: Meerdere kritische belangrijke antibiotica (classificatie volgens WHO)

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

E.coli & Salmonella spp.

Amikacine

Cefotaxime

Ceftazidime

Ampicilline

Tetracycline

Ciprofloxacin

Nalidixinezuur

Sulfamethoxazole

Gentamicine

Meropenem

Trimethoprim

Chloramfenicol

Colistine

Azithromycine

Tigecycline

Campylobacter spp.

Ertapenem

Chloramfenicol

Ciprofloxacin

Tetracycline

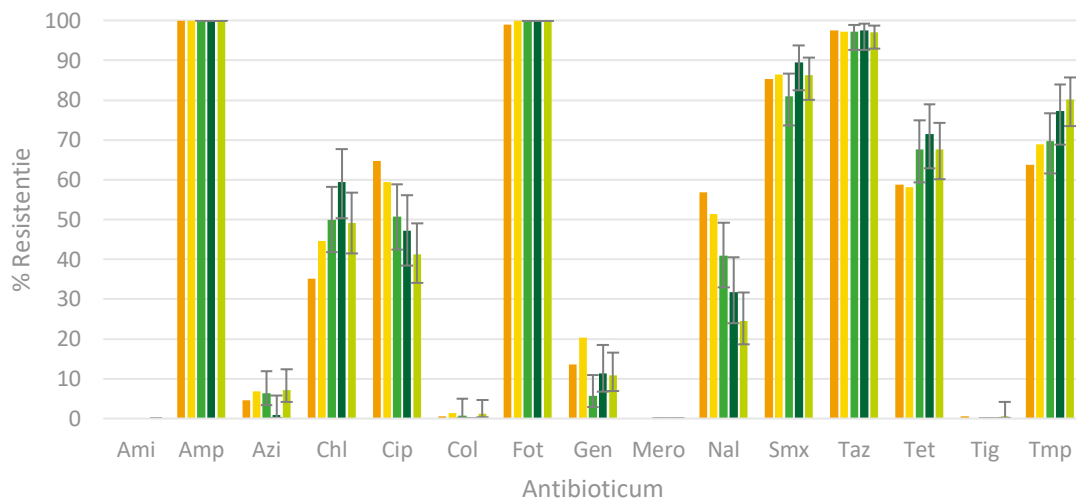
Gentamicine

Erythromycine

Prevalentie van ESBL-producerende *E.coli*

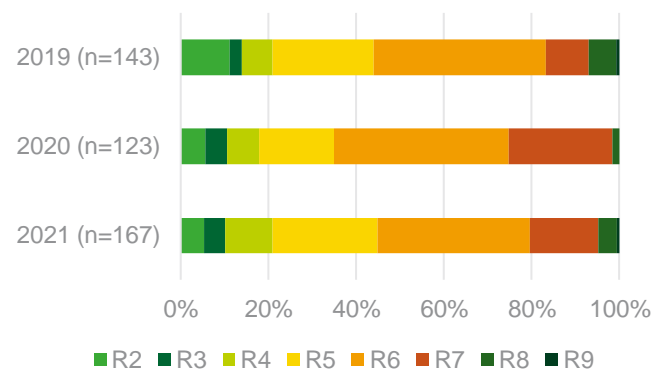
Prevalentie ESBL 2021	Vers vlees	Mest
Vleeskippen	56 %	78,54 %
Varkens	3,33 %	40,33 %
Vleeskalveren	2 %	59,80 %

Selectieve monitoring van ESBL- of carbapenemase- producerende *E. coli* stammen afkomstig van kippenvlees

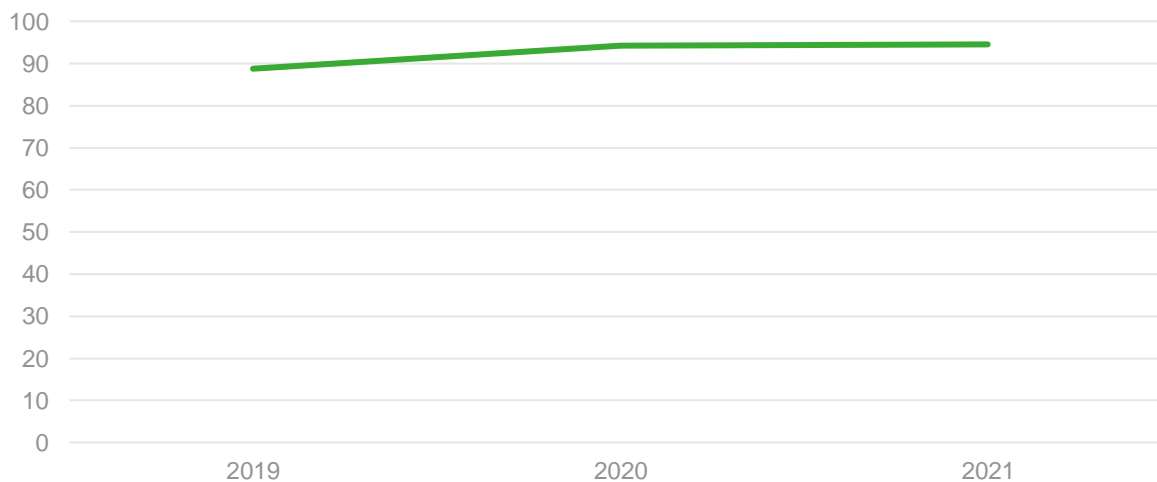


■ 2017 ■ 2018 ■ 2019 ■ 2020 ■ 2021

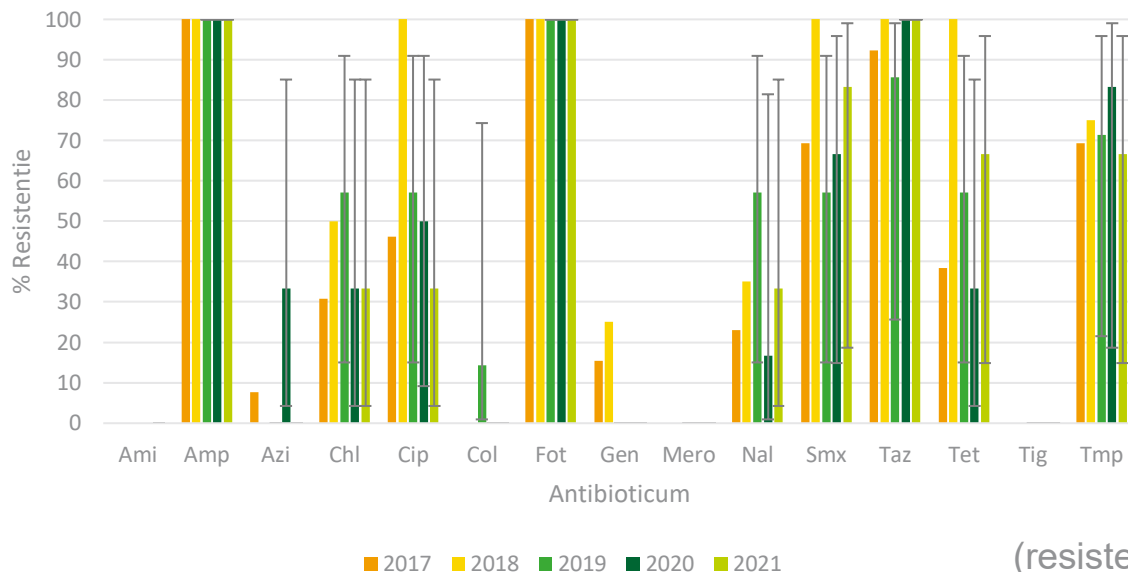
Aantal antibiotica waartegen
resistentie is



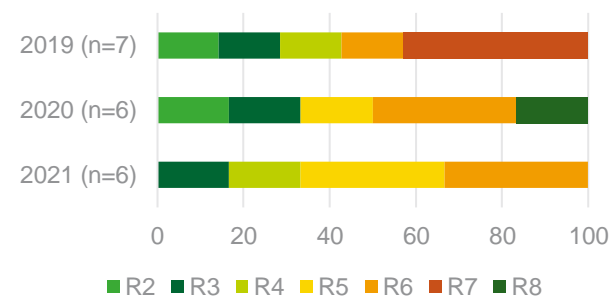
Multiresistentie (resistent tegen ≥ 3 antibiotica)



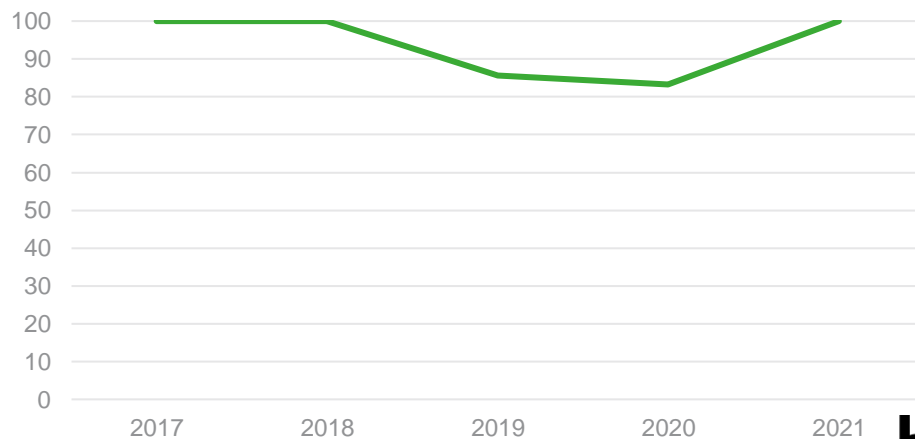
Selectieve monitoring van ESBL- of carbapenemase-producerende *E. coli* stammen afkomstig van varkensvlees



Aantal antibiotica waartegen resistentie is



Multiresistentie (resistent tegen ≥ 3 antibiotica)

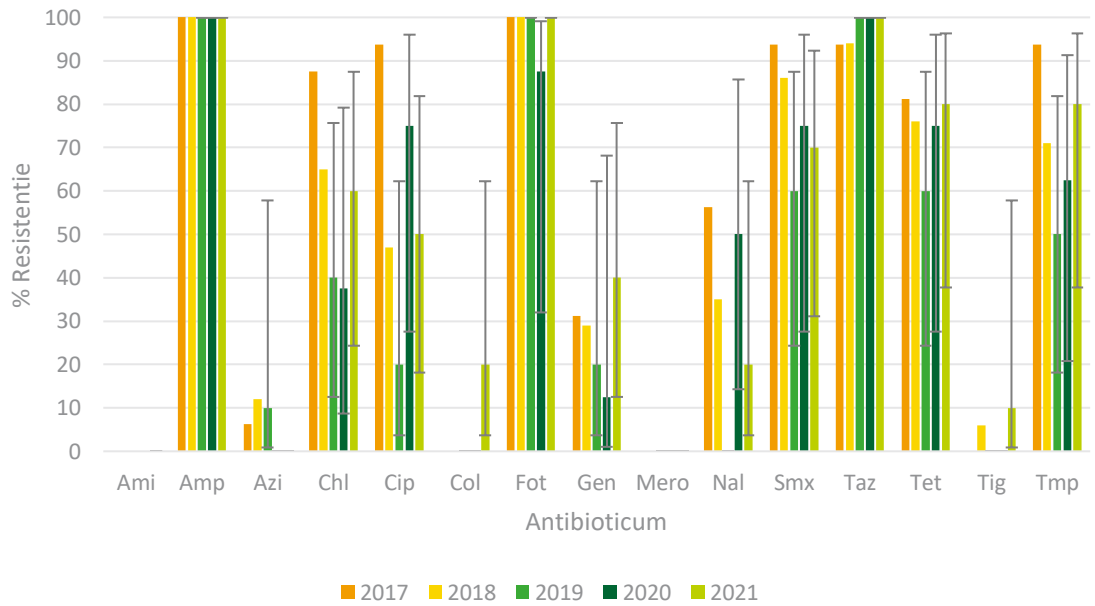


! Lage prevalentie van stammen afkomstig van varkensvlees

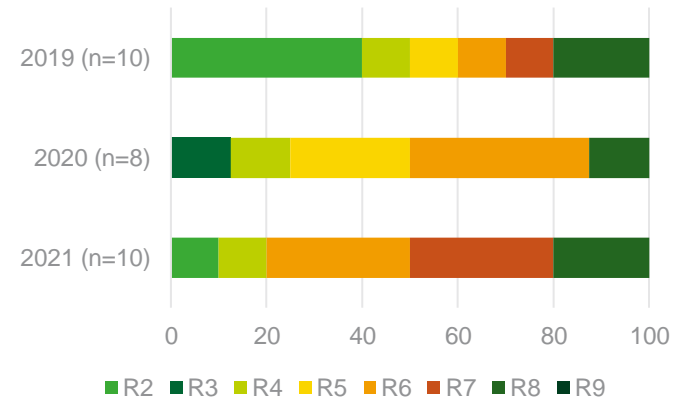
100% multiresistentie

Geen R7/R8 stammen in 2021

Selectieve monitoring van ESBL- of carbapenemase- producerende *E. coli* stammen afkomstig van kalfsvlees

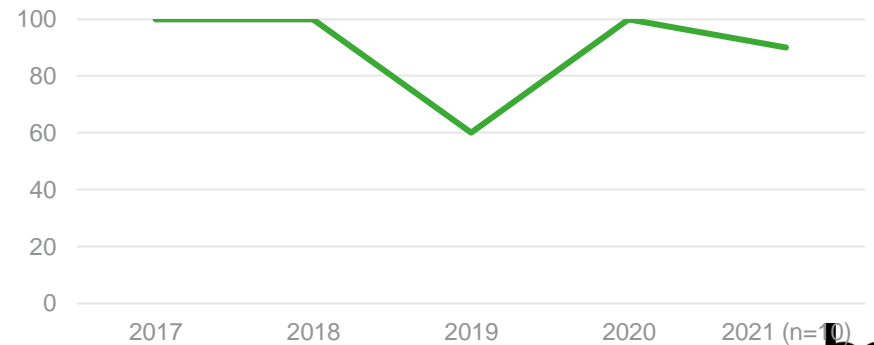


Aantal antibiotica waartegen
resistentie is

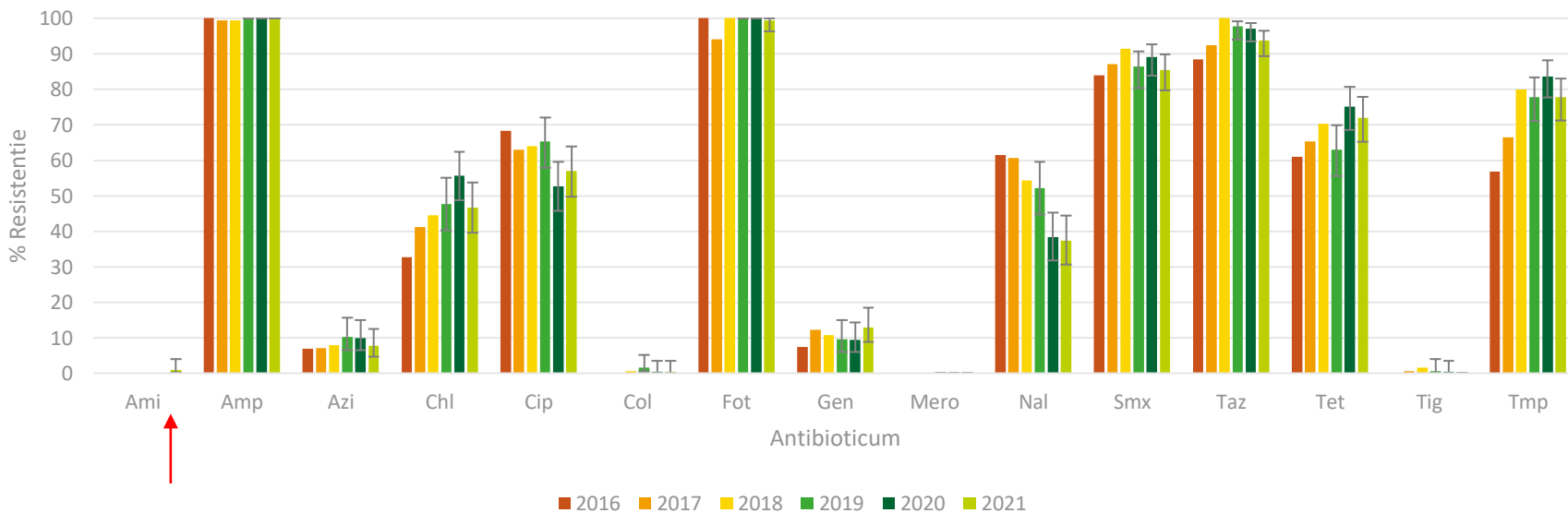


! Lage prevalentie

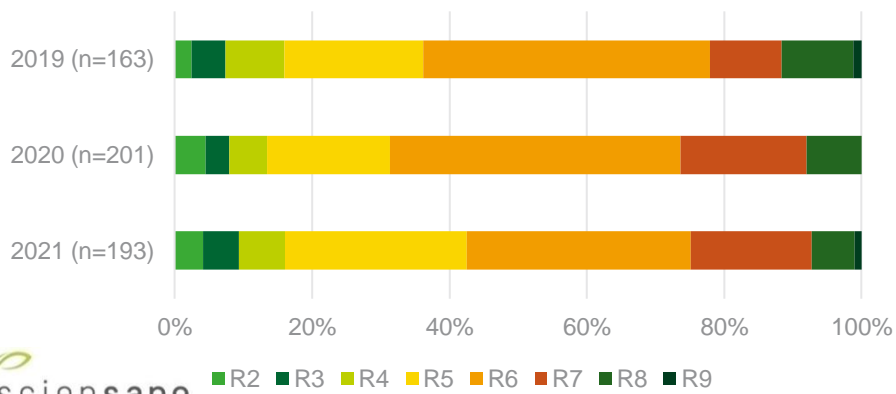
Multiresistentie
(resistent tegen ≥ 3 antibiotica)



Selectieve monitoring van ESBL- of carbapenemase-producerende *E. coli* stammen afkomstig van mest van vleeskippen



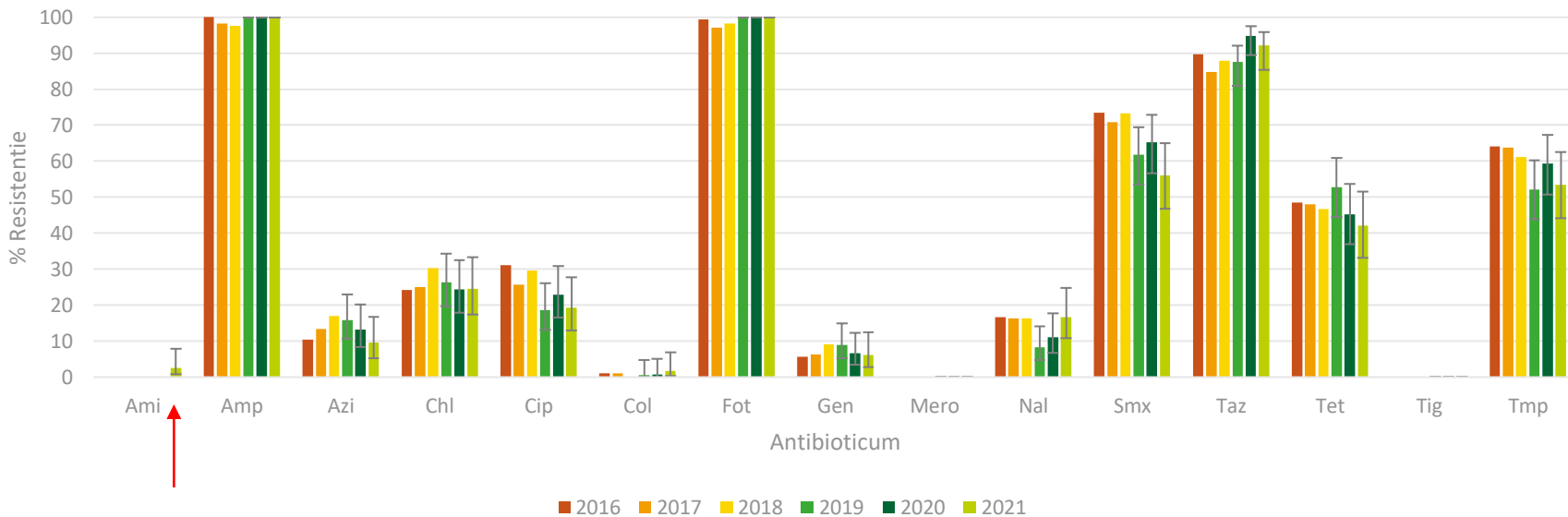
Aantal antibiotica waartegen resistentie is



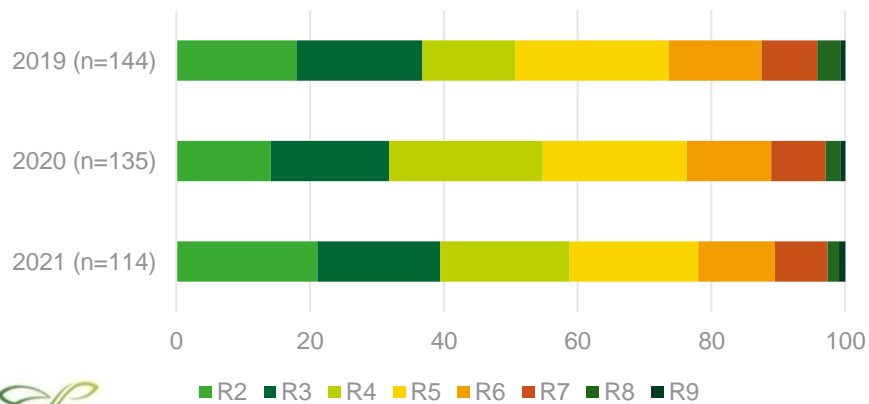
Multiresistentie (resistent tegen ≥ 3 antibiotica)



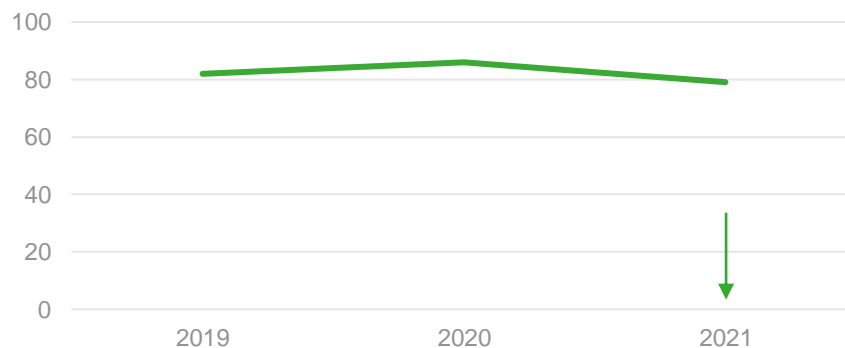
Selectieve monitoring van ESBL- of carbapenemase- producerende *E. coli* stammen afkomstig van mest van varkens



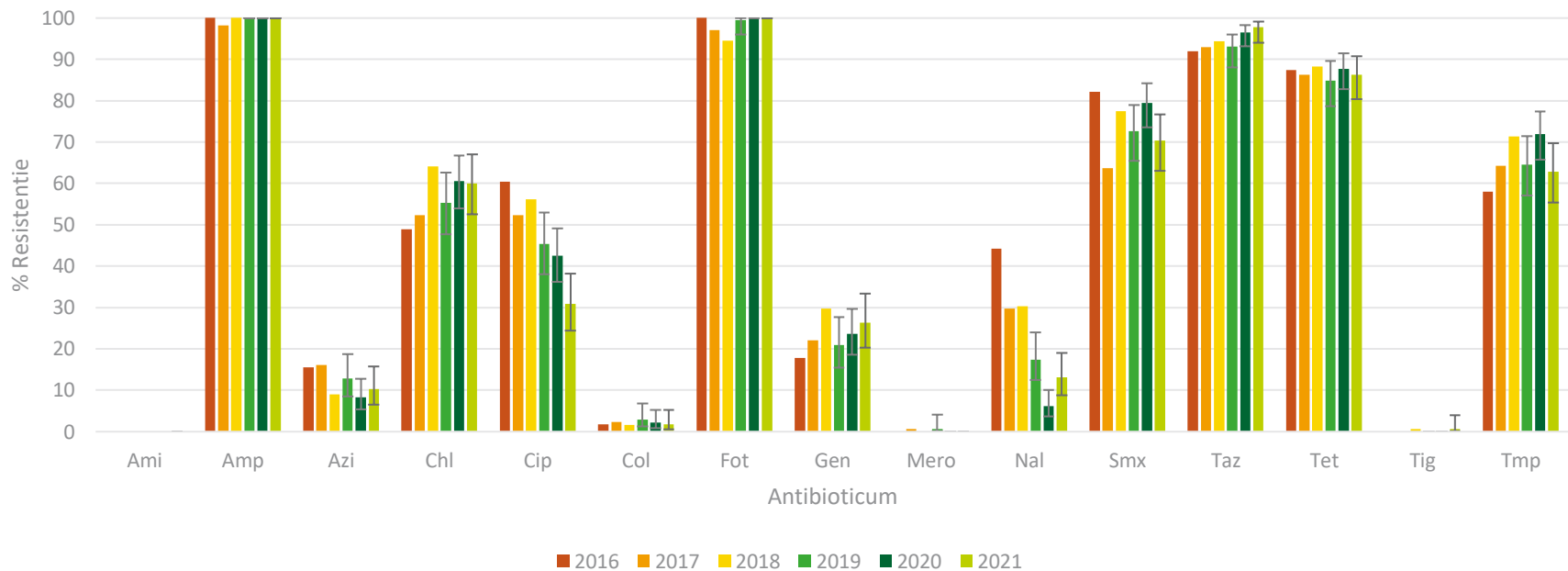
Aantal antibiotica waartegen resistentie is



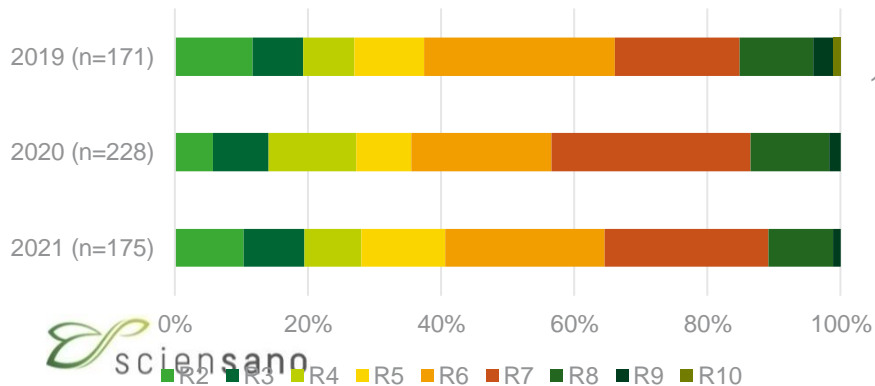
Multiresistentie
(resistent tegen ≥ 3 antibiotica)



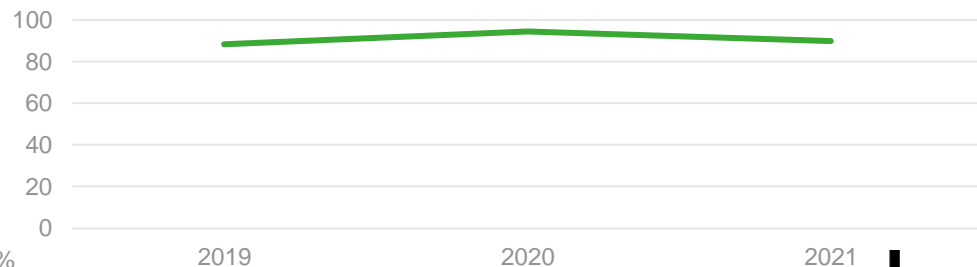
Selectieve monitoring van ESBL- of carbapenemase- producerende *E. coli* stammen afkomstig van mest van kalveren



Aantal antibiotica waartegen resistentie is



Multiresistentie
(resistent tegen ≥ 3 antibiotica)



RESULTATEN SEQUENCING ESBL-PRODUCERENDE *E. COLI*

Implementatie van WGS in het kader van de AMR monitoring

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 Sustainable Development Goals (SDGs) and the Sustainable Development 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 and spread of AMR and further inform timely policy development on AMR control. See AMR surveillance may provide key information to guide the development of rapid diagnostic methods for 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.

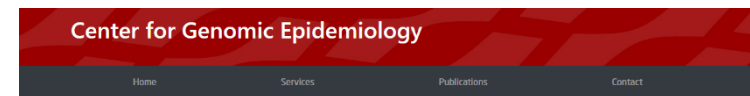
Workflow



2020/7894 Monitoring AMR
(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.

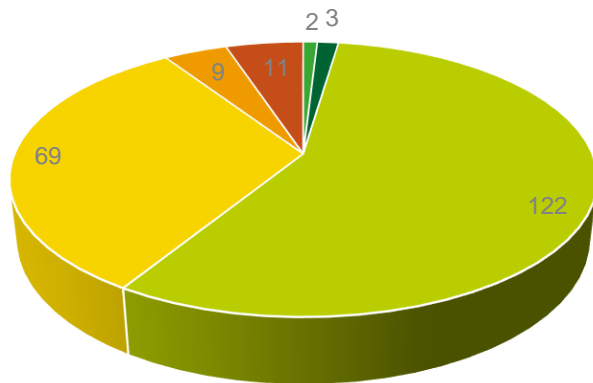
ResFinder and PointFinder software: (2022-03-10)
ResFinder database: EFSA_2021 (2022-05-24)
PointFinder database: (2021-02-01)

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

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

Genotypering van β -lactamases producerende *E. coli* stammen

In 2021 werd het genoom van 216 ESBL-producerende *E. coli* stammen afkomstig van de primaire productie en van vers vlees gesequeneerd door Sciensano (dienst dierlijke pathogenen).



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



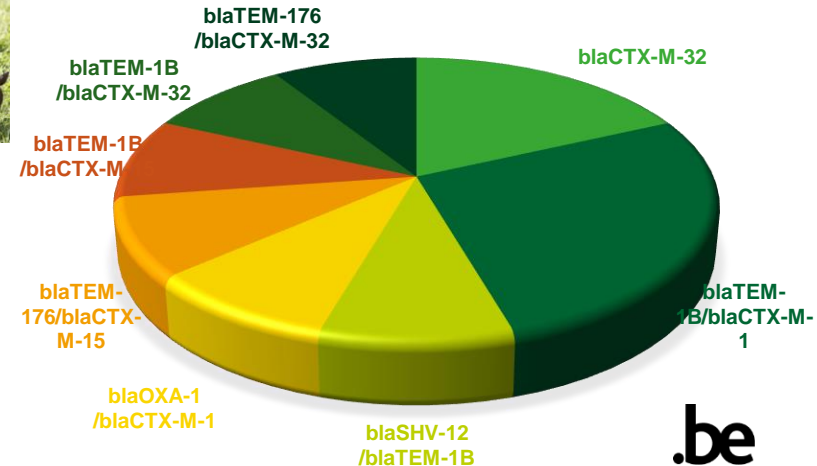
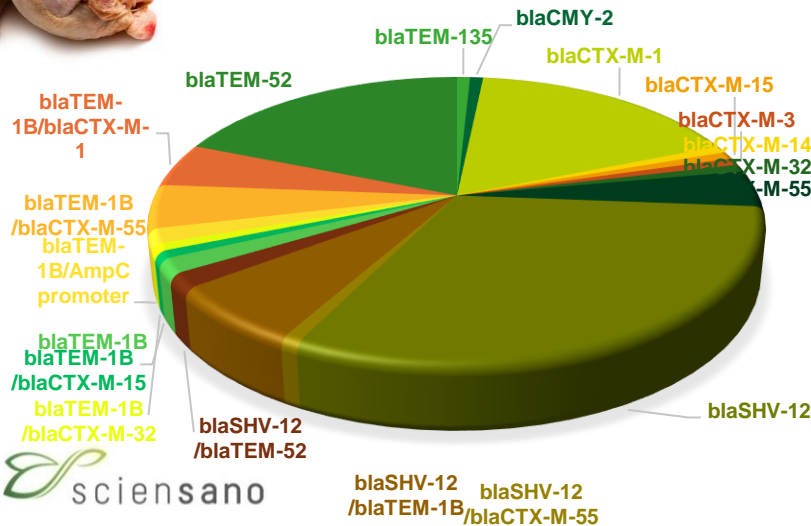
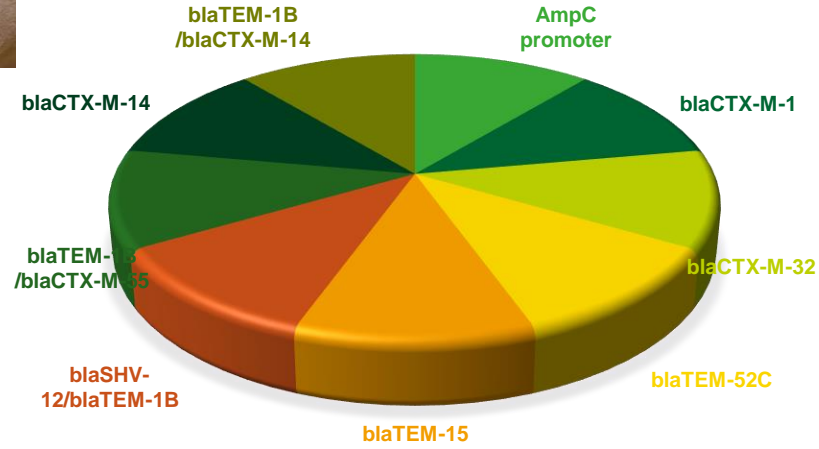
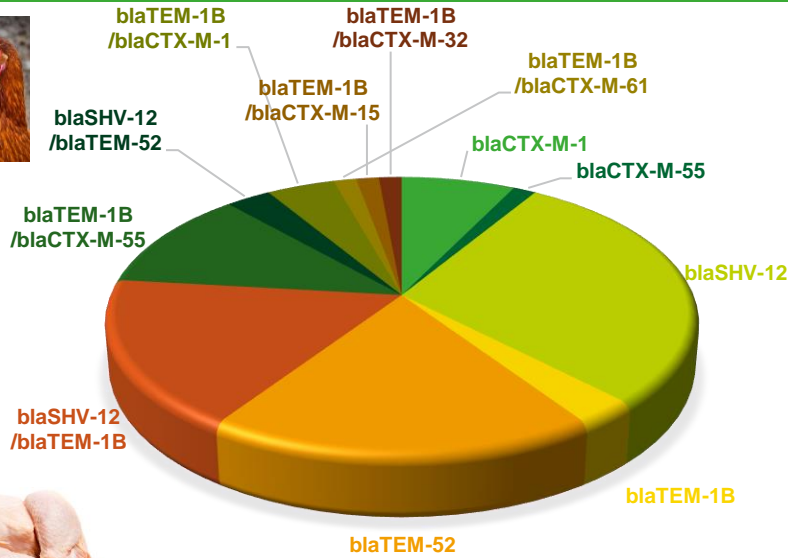
Alle isolaten werden bevestigd als zijnde ESBL-producerende stammen, resistent aan 3de generatie cefalosporines.

Er werd een grote diversiteit in ESBL-producerende stammen teruggevonden in elke diercategorie.

Wat het voorkomen van co-resistentie tegen kritisch belangrijke antibiotica betreft (Cip, Azi, Col, Tig) is het voorkomen van het PMQR-gen kritiek, terwijl plasmide-gemedieerde resistentie tegen colistine laag is,

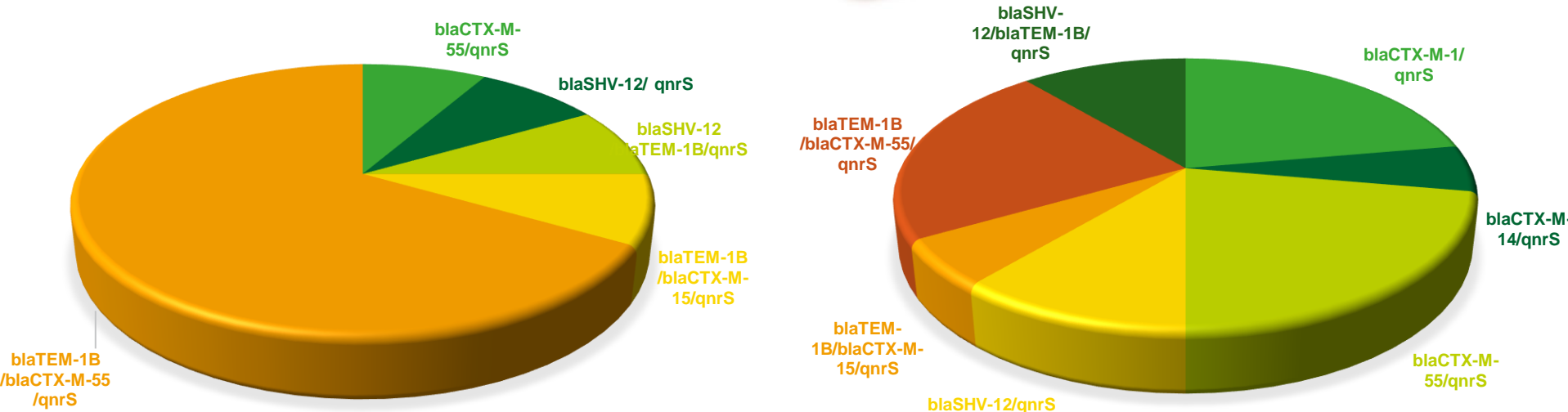
Resistentiegenen tegen niet gebruikte antibiotica, zoals chloramfenicol werden terug gevonden bij pluimvee. Resistentiegenen tegen desinfectantia werden ook terug gevonden.

Resistentiegenen geassocieerd met ESBL- producerende *E. coli* stammen



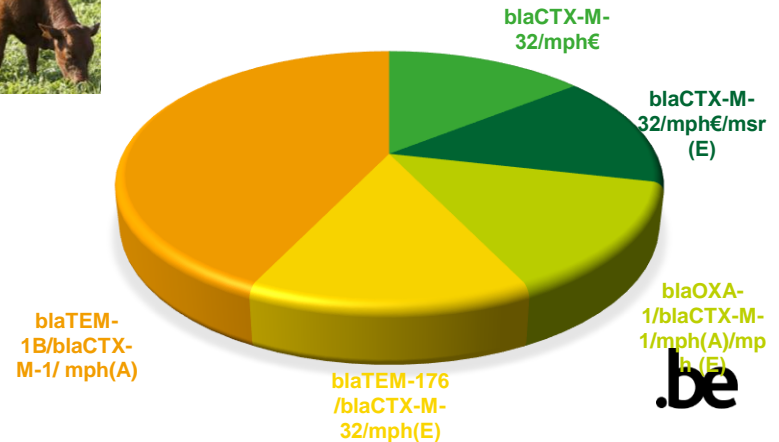
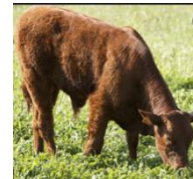
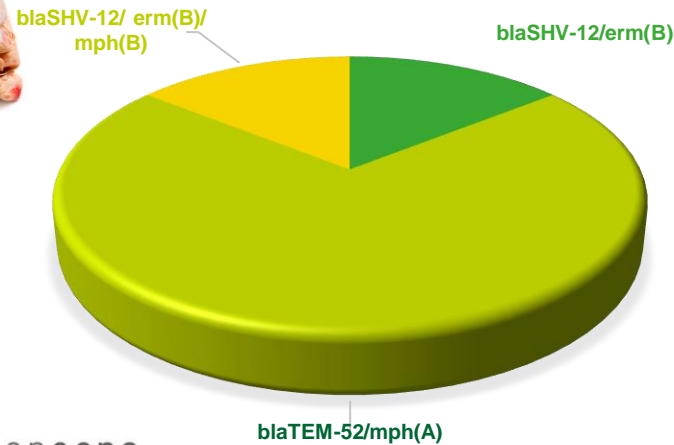
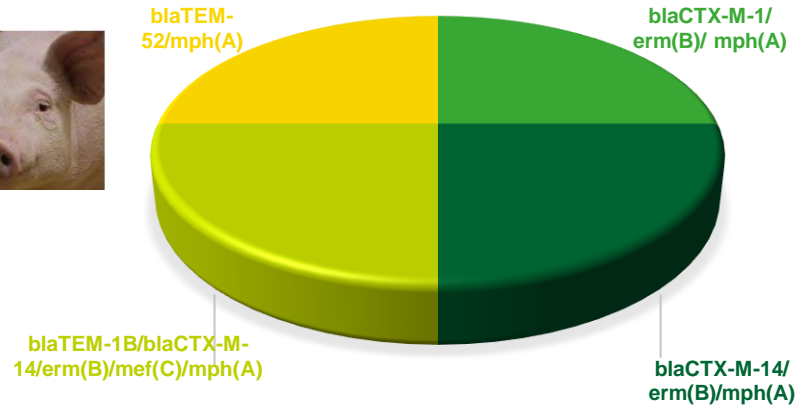
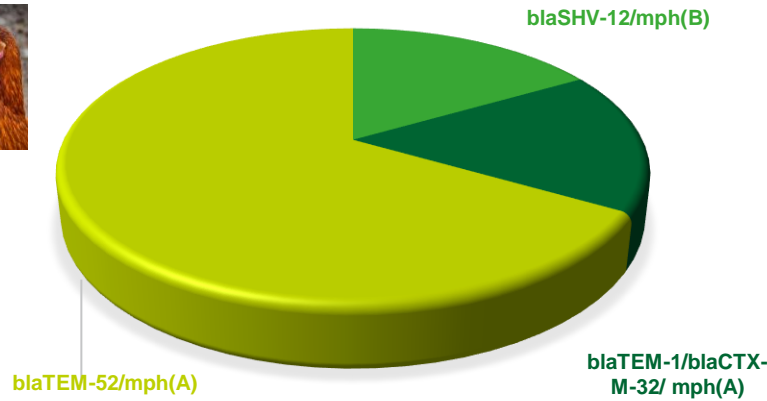
Co-R tegen fluoroquinolones

Het PMQR gen werd terug gevonden bij *E. coli* stammen van pluimvee (20%), pluimveevlees (14,7%) en varkens (11%), en is afwezig bij vleeskalveren en in varkens- en kalfsvlees

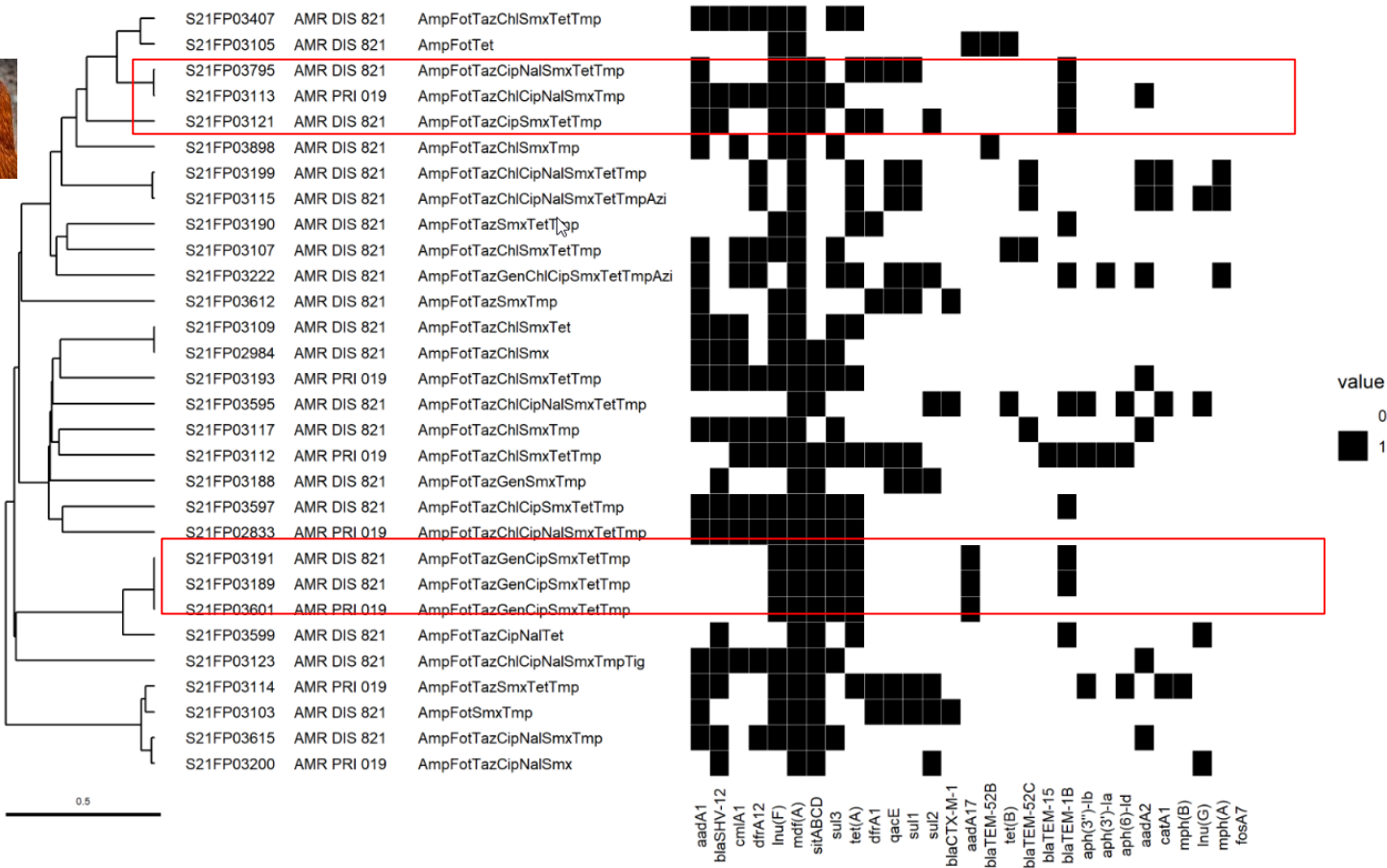


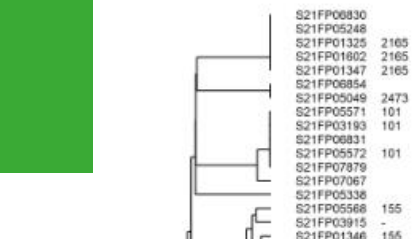
Co-R tegen azithromycine

Resistentiegenen tegen azithromycine werden terug gevonden bij ESBL-producerende *E. coli* stammen afkomstig van vleeskalveren (63,63%), varkens (44,4%), vleeskippen (8%) en kippenvlees (5,73%).

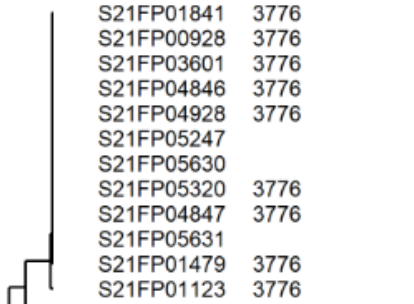
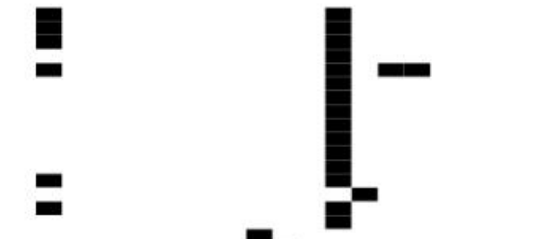


Cluster analyse: Vleeskippen en vers kippenvlees

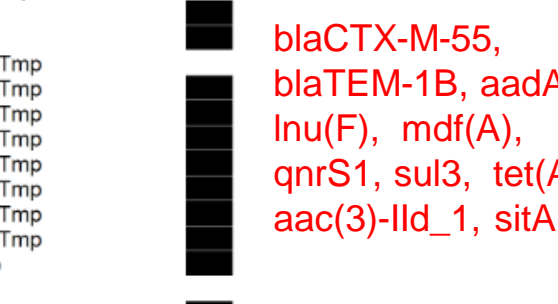




S21FP06830 AmpFotTazChlCipSmxTetTmp
 S21FP05248 AmpFotTazChlCipSmxTetTmp
 S21FP01325 2165 AmpFotTazChlCipSmxTetTmp
 S21FP01602 2165 AmpFotTazChlCipSmxTetTmp
 S21FP01347 2165 AmpFotTazChlCipSmxTetTmp
 S21FP06854 AmpFotTazCipNal
 S21FP05049 2473 AmpFotTazCipNal
 S21FP05571 101 AmpFotTazChlCipSmxTetTmp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



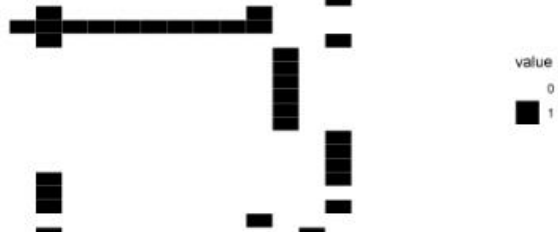
S21FP01841 3776 AmpFotTazGenCip
 S21FP00928 3776 AmpFotTazGenCipTet
 S21FP03601 3776 AmpFotTazGenCipSmxTetTmp
 S21FP04846 3776 AmpFotTazGenCipSmxTetTmp
 S21FP04928 3776 AmpFotTazGenCipSmxTetTmp
 S21FP05247 AmpFotTazGenCipSmxTetTmp
 S21FP05630 AmpFotTazGenCipSmxTetTmp
 S21FP05320 3776 AmpFotTazGenCipSmxTetTmp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



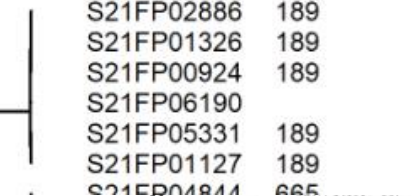
blaCTX-M-55,
 blaTEM-1B, aadA17
 lnu(F), mdf(A),
 qnrS1, sul3, tet(A),
 aac(3)-Ild_1, sitABCD



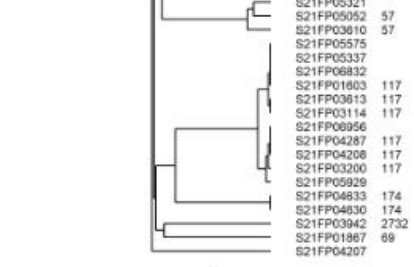
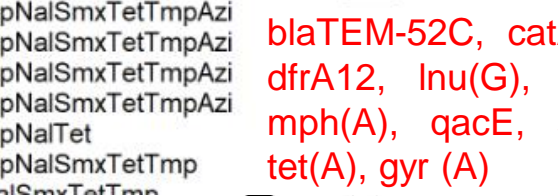
S21FP00906 AmpFotTazCipNalSmxTetTmp
 S21FP00316 AmpFotTaz
 S21FP03198 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmp
 S21FP02886 189 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmpAzi
 S21FP01326 189 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmpAzi
 S21FP00924 189 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmpAzi
 S21FP06190 AmpFotTazChlCipNalSmxTetTmpAzi
 S21FP05331 189 AmpFotTazChlCipNalTet
 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



Conclusies



Resistentie tegen 3de/4de generatie cefalosporines werd bevestigd via WGS



Resistentiegenen *CTX-M G1*, *SHV-12* en *TEM-52* komen het meeste voor



Er werd geen enkel gen teruggevonden dat codeert voor resistentie tegen carbapenems of tegen tigecycline



Ciprofloxacineresistentie is plasmidegemedieerd (*QnrS*), terwijl gelijktijdige resistentie tegen ciprofloxacine en nalidixinezuur gelinkt is aan chromosomale mutaties (*gyrA*, *parC*)



Het resistentiegen *mcr 1.1* werd zelden terug gevonden bij ESBL-producerende *E. coli* stammen, behalve bij kalfsvlees

RESULTATEN VAN SEQUENCERING VAN MRSA EN ENTEROCOCCEN

Onderzoek door NGS van 5 HA-MRSA stammen afkomstig van melkkoeien en vleesvee in 2021

- Het genotype **ST239-t037** wordt geassocieerd met **HA-MRSA** en is wereldwijd verspreid
- **In 2021: 5 CC8-ST239-t037 stammen: 3 van melkkoeien en 2 van vleesvee**
 - Drager van dezelfde **virulentiegenen**:
 - *sak* en *scn* geassocieerd met een **immunitetsinvasiecluster**
 - Meerdere genen geassocieerd met **toxines** (*hlgA*, *hlgB*, *hlgC*, *lukD*, *lukE*, *sea*, *sek*, *seq*, *selw* et *selx*) en **exoenzymes** (*aur*, *splA*, *splB* et *splE*)
 - negatief voor PVL
 - Presenteren zeer gelijkaardige **cgMLST** profielen
 - Zelfde fenotypisch resistentieprofiel: STR-SMX-**RIF**-PEN-CHL-ERY-FOX-KAN-TET
 - Het gaat over de enige **MRSA** stammen van de monitoring in **2021** resistent aan **rifampicine** (2 mutaties geobserveerd in alle stammen)
 - Epidemiologische link?

Onderzoek door NGS van één CA-MRSA bij vleeskalveren in 2021

- 1 isolaat afkomstig van vleeskalveren met genotype **CA-MRSA: CC1/ST1 t386**
 - Genotype reeds in de literatuur gerapporteerd:
 - **ziekenhuizen** (Palestine, Hadyeh et al., 2019)
 - Een Europese egel (Ruiz-Ripa et al., 2019)
 - In andere dierlijke en humane stammen in **Europa en het Midden-Oosten** (Earls et al 2021)
 - Drager van verschillende **virulentiegenen**:
 - *sak* en *scn* geassocieerd met een **immunitetsinvasiecluster**
 - **meerdere genen** geassocieerd met **toxines** (*hlgA*, *hlgB*, *hlgC*, *lukD*, *lukE*, *seh*, *selw* et *selx*) en **exoenzymen** (*aur*, *splA* et *splB*).
 - negatief voor PVL

Onderzoek door NGS van resistentie geobserveerd bij Enterococcen in 2021

- Resistentie tegen **linezolide** :

- 12 gesequeneerde stammen (10 *E. faecalis*, bij kalveren geïsoleerd (n=8), vleeskippen (n=1) en fokpluimvee (n=1) en 2 *E. faecium*, geïsoleerd bij varkens (n=1) en kalveren (n=1)) op 14 stammen **LZD-R** (12 *E. faecalis* + 2 *E. faecium*) in 2021

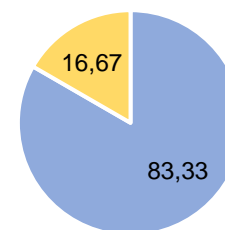
- Geobserveerde genotypes:

- *optrA* geobserveerd bij *E. faecalis*
- *optrA/poxxA* geobserveerd bij *E. faecium*

- ⚠ Kruisresistentie:**

<i>optrA</i>	<i>poxxA</i>
fenicolen	fenicolen
	Tetracycline

Geobserveerde genotypes (%) bij Enterococcen resistent tegen linezolide (n=12)



■ *optrA* ■ *optrA/poxxA*

- Resistentie tegen **vancomycine** :

- Aanwezigheid van cluster *vanA* bij 1 *E. faecalis* **VAN-R** geïsoleerd bij kalveren
- Aanwezigheid van cluster *vanA* bij 1 *E. faecium* **VAN-S** (MIC=4, cut-off waarde) geïsoleerd bij kalveren

- Resistentie **tegen desinfectantia** :

- Aanwezigheid van *clpL* bij 7 *E. faecalis* geïsoleerd bij kalveren

BEDANKT VOOR UW AANDACHT!

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