

AVIS 18-2021

Objet:

***Whole Genome Sequencing* pour la détection  
des toxi-infections alimentaires et  
l'évaluation du risque bactérien**

(dossier SciCom 2020/08 : auto-saisine)

Avis scientifique provisoirement approuvé par le Comité scientifique le 22 octobre 2021.

**Mots clés :**

*Whole genome sequencing*, agents pathogènes d'origine alimentaire, évaluation du risque bactérien, enquête des foyers épidémiques

**Key terms:**

Whole genome sequencing, foodborne pathogens, bacterial risk assessment, outbreak investigation

## Table des matières

Résumé .....	3
Summary .....	7
1. Termes de référence .....	11
1.1. <i>Question</i> .....	11
1.2. <i>Méthode</i> .....	11
2. Abréviations et acronymes .....	12
3. Contexte .....	13
4. Bref contexte sur le WGS dans le contexte de la sécurité alimentaire au niveau bactérien .....	14
5. Réponse aux termes de référence .....	19
6. Incertitudes .....	27
7. Conclusion .....	28
8. Recommandations .....	28
Références .....	31
Membres du Comité scientifique .....	42
Conflit d'intérêts .....	42
Remerciements .....	42
Composition du groupe de travail .....	43
Consultation publique .....	43
Cadre juridique .....	43
Disclaimer .....	43
Annexe 1 Contexte détaillé (anglais) .....	44
1.1. <i>What is whole genome sequencing ?</i> .....	44
1.2. <i>Possibilities of whole genome sequencing for typing (including serotyping) of pathogens</i> .....	51
1.3. <i>Possibilities of whole genome sequencing for determining the antimicrobial resistance</i> .....	59
1.4. <i>Possibilities of whole genome sequencing for the investigation of outbreaks</i> .....	62
1.5. <i>Possibilities of WGS for bacterial risk assessment in general</i> .....	75
1.6. <i>Inter-operationality of data generation and various data systems</i> .....	77
1.7. <i>Persistence of pathogens in food producing environments</i> .....	81
Annexe 2 Glossaire .....	85
Annexe 3 Réponse aux remarques formulées lors de la consultation ouverte du 15 juillet au 15 septembre 2021 .....	91

## Résumé

### **Avis 18-2021 du Comité scientifique institué auprès de l'AFSCA relatif au *Whole Genome Sequencing* pour la détection des toxi-infections alimentaires et l'évaluation du risque bactérien**

#### Contexte et termes de référence

Cet avis traite du *Whole Genome Sequencing* (WGS), qui consiste à déterminer la séquence d'ADN du génome d'un organisme à partir d'un isolat. La "métagénomique", dans laquelle les séquences d'ADN sont déterminées à partir d'un échantillon biologique qui peut contenir plusieurs micro-organismes, n'entre pas dans le scope du présent avis. Les virus, bien qu'également importants pour les infections d'origine alimentaire, n'entrent pas dans le champ d'application de cet avis. Cet avis concerne le WGS des bactéries, car les bactéries sont également la première priorité de l'EFSA et de l'ECDC.

Le développement technologique du *Whole Genome Sequencing* (WGS) offre de nouvelles possibilités pour l'identification des causes des infections et intoxications d'origine alimentaire, la caractérisation génotypique de la résistance antimicrobienne, la détermination de la virulence, le sérotypage des agents pathogènes et l'échange standardisé de données. Cependant, la mise en œuvre du WGS suscite également un certain nombre de préoccupations.

Le présent avis a été préparé par le Comité Scientifique dans le cadre d'un mandat d'autosaisine. L'avis aborde les termes de référence suivants, en mettant l'accent sur le contexte belge :

1. Les avantages de l'utilisation du WGS pour l'enquête des foyers épidémiques
2. Les avantages de l'utilisation du WGS pour l'évaluation de la sécurité alimentaire en matière de risque bactérien
3. L'interprétation du lien entre les aliments contaminés, les infections humaines et la source de contamination dans la chaîne alimentaire
4. Les recommandations sur la (poursuite de la) mise en œuvre du WGS pour la gestion de la sécurité alimentaire en Belgique
5. La validation de la méthodologie de WGS : importance, état actuel et évolutions attendues
6. Exigences - sur le plan technique et organisationnel - pour partager des données de WGS dans le contexte de la sécurité alimentaire

#### Méthode

Cet avis repose sur les informations disponibles dans la littérature scientifique et sur l'opinion des experts.

#### Avis

Le *whole genome sequencing* (WGS) offre de nouvelles possibilités pour améliorer la sécurité alimentaire bactérienne. Néanmoins, un certain nombre de préoccupations accompagne la mise en œuvre du WGS dans le cadre de la surveillance (inter)nationale et de la gestion de la sécurité alimentaire. L'avis porte sur différents agents pathogènes d'origine alimentaire, notamment les

bactéries *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* et *Escherichia coli* productrice de shigatoxines (STEC). Ces trois agents pathogènes sont exposés plus en détail dans la partie consacrée aux enquêtes des foyers épidémiques (Annexe 1), parce qu'ils sont le premier et le véritable objet de la base de données de WGS commune développée par l'EFSA et l'ECDC.

Dans un premier temps, le présent avis décrit le contexte du WGS et vient placer cette technologie dans le contexte plus large des autres méthodes moléculaires et d'identification bactérienne. Dans la deuxième partie de cet avis, les termes de référence liés à la mise en œuvre de cette technologie sont abordés en se concentrant plus particulièrement sur le contexte belge.

## Conclusion

Dans cet avis, le Comité scientifique a situé l'utilisation du WGS pour la détection des foyers de toxoinfection alimentaires et l'évaluation des risques bactériens. Le Comité scientifique a également réfléchi à la mise en œuvre du WGS dans le contexte belge. À l'avenir, le WGS deviendra la méthode privilégiée pour les enquêtes sur la sécurité alimentaire en matière de risque bactérien, en raison de son pouvoir discriminatoire élevé et de la disparition au niveau international de diverses méthodes de typage plus anciennes. Bien que les méthodes WGS et les pipelines d'analyse des données soient encore en constante évolution et amélioration, le WGS est prêt à être utilisé dans les enquêtes épidémiologiques de routine et les activités de surveillance. Le Comité scientifique formule plusieurs recommandations concernant la mise en œuvre du WGS dans le contexte belge. Pour faciliter la transition vers le WGS pour l'analyse des isolats alimentaires, y compris la surveillance de la RAM, une période de transition peut être mise en place. Cela laisse aux laboratoires le temps d'acquérir de l'expérience et de préparer les infrastructures nécessaires. Le Comité scientifique conseille à l'AFSCA de passer (progressivement) au WGS pour l'analyse des isolats alimentaires.

Cependant, en dépit des avantages du WGS, certaines limites doivent encore être prises en compte pour une mise en œuvre systématique et uniforme. Des efforts doivent être faits pour valider la méthodologie de WGS et pour faciliter le partage des données. Dans les enquêtes des foyers épidémiques, il est recommandé que les résultats du WGS relatifs à la comparaison des souches soient interprétés par une équipe multidisciplinaire (microbiologistes, biologistes moléculaires, bioinformaticiens, épidémiologistes) disposant d'une expertise suffisante. Il est également recommandé que, lors du WGS pour le sous-typage des souches dans le cadre d'une enquête des foyers épidémiques, des méthodes de WGS et des outils bioinformatiques validés ou reconnus au niveau international soient utilisés et interprétés en fonction de la clonalité de l'agent pathogène considéré. En outre, les preuves épidémiologiques et les métadonnées sur les souches doivent être prises en compte. Ces métadonnées comprennent des caractéristiques telles que les données de géolocalisation, la source d'isolement, la date de collecte, l'organisation effectuant la collecte, les noms des échantillons et des souches. Il est recommandé d'être vigilant quant à l'interprétation et la communication correctes des responsabilités des différents acteurs (autorité compétente, ESA, consommateurs) en cas de foyers. À cet égard, il est important de faire savoir que le risque zéro en matière de sécurité alimentaire bactérienne n'existe pas.

## Recommandations

Le Comité Scientifique formule les recommandations suivantes :

- Il est recommandé de faire la transition vers le WGS pour l'analyse des isolats liés à l'alimentation en Belgique, dans un avenir (proche).
  - a. Comme les anciennes méthodes de typage sont en train de disparaître au niveau international, le WGS deviendra la méthode de choix pour le typage des souches (y compris le sérotypage pour *Salmonella* et *E. coli* producteurs de shigatoxines) pour la surveillance nationale, l'attribution des sources et l'enquête des foyers épidémiques. Une période de transition peut être mise en place, afin que les laboratoires puissent investir dans les infrastructures appropriées, acquérir l'expertise technique nécessaire, mettre en place un flux standardisé pour la mise en œuvre de la méthode WGS qui puisse être validé et acquérir de l'expérience.
  - b. Étant donné que les données WGS-RAM peuvent être obtenues à partir des mêmes données de WGS que celles utilisées pour le typage, l'attribution de la source et l'enquête des foyers épidémiques, et qu'elles peuvent compléter les données phénotypiques par des informations supplémentaires liées aux marqueurs génétiques et être examinées rétrospectivement, il est recommandé, pour la surveillance de la RAM, d'extraire des données à partir de celles du WGS recueillies à d'autres fins. Étant donné que cette méthode a récemment été acceptée comme méthode alternative pour la surveillance spécifique des *E. coli* et *Salmonella* producteurs de BLSE ou d'AmpC ou de carbapénémase et que l'EURL-AR a élaboré un protocole technique à suivre, on peut s'attendre à ce que la transition vers le WGS-RAM se poursuive au niveau de l'UE.
- Le partage des données de WGS peut être effectué en centralisant les données au niveau national, au niveau belge ou directement au niveau international, au niveau européen. Tant pour les données cliniques humaines que pour les données agroalimentaires, une nouvelle infrastructure devra être mise en place au niveau belge. Cette nouvelle infrastructure sera idéalement conçue comme une base de données commune ou, au moins, comme deux bases de données pouvant communiquer afin que les données communes puissent être analysées. D'ici juin 2022, la base de données commune européenne sera opérationnelle et permettra la communication entre la base de données de WGS de l'EFSA (isolats provenant de produits agroalimentaires) et la base de données Tessy de l'ECDC (isolats cliniques provenant de l'homme). Les isolats belges issus de la chaîne agro-alimentaire et d'origine clinique humaine pourront être soumis aux bases de données respectives.
- Il est recommandé que les résultats basés sur le WGS concernant la comparaison des souches dans les enquêtes épidémiologiques (par exemple, par l'analyse PNU ou le cgMLST) soient interprétés par une équipe multidisciplinaire (microbiologistes, biologistes moléculaires, bio-informaticiens, épidémiologistes) disposant d'une expertise suffisante. Il n'est pas possible de définir un seuil précis pour le nombre de différences génétiques entre des souches provenant d'une source commune. Les données dérivées du WGS doivent être combinées avec des métadonnées informatives pour l'interprétation épidémiologique. En outre, afin d'établir une définition de cas efficace (par exemple, un seuil) basée sur le WGS, les données de WGS

doivent être disponibles pour les souches en circulation. Cela fournira une population qui permettra d'évaluer les clusters de souches responsables de foyers potentiels. Par conséquent, l'utilisation actuelle du WGS lors des enquêtes épidémiologiques devrait être étendue aux programmes de surveillance officiels.

- Afin de prévenir les foyers, notamment celles causées par des agents pathogènes dont on sait qu'ils peuvent persister dans l'environnement de transformation (par exemple, *L. monocytogenes*), il est recommandé d'étudier leur présence dans l'environnement de transformation des aliments et d'assurer le suivi du processus de nettoyage et de désinfection.
  - Il est recommandé de poursuivre le processus de normalisation et de validation de la méthodologie de WGS, tant pour la partie « laboratoire humide » que pour la partie « laboratoire sec ». Pour cette technologie également, les méthodes utilisées doivent garantir que les résultats sont conformes aux critères définis dans la norme ISO/DIS 23418 (Microbiologie de la chaîne alimentaire — Séquençage de génome entier pour le typage et la caractérisation génomique des bactéries d'origine alimentaire — Exigences générales et recommandations). Il est recommandé de documenter soigneusement les résultats basés sur le WGS avec des métadonnées suffisantes, afin que, même en cas de mise à jour des bases de données, aucune information ne soit perdue et que la traçabilité de la source des aliments ou de l'exploitant du secteur alimentaire soit maintenue.
  - Il est recommandé d'être vigilant quant à l'interprétation et à la communication correctes des responsabilités des différents acteurs (autorité compétente, exploitants du secteur alimentaire (ESA), consommateur) en cas des foyers d'épidémie. À cet égard, il est important de faire savoir que le risque zéro en matière de sécurité bactérienne des aliments n'existe pas.
-

## Summary

### **Opinion 18-2021 of the Scientific Committee established at the FASFC regarding: Whole genome sequencing for the detection of foodborne outbreaks and bacterial risk assessment**

#### Background & Terms of reference

This opinion deals with Whole Genome Sequencing (WGS), in which the DNA sequence of an organism's genome is determined starting from an isolate. "Metagenomics", in which DNA sequences are determined from a biological sample, which may contain multiple microorganisms, does not fall within the scope of this opinion. Viruses, although also important for foodborne infections, are not in the scope of this opinion. This opinion is addressing WGS of bacteria, as bacteria are also the first priority of EFSA and ECDC.

Technological development of Whole Genome Sequencing (WGS) provides new opportunities for the identification of the causes of foodborne infections and intoxications, the genotypic characterization of antimicrobial resistance, the determination of virulence, the serotyping of pathogens and the standardized exchange of data. At the same time, there are also a number of concerns about the implementation of WGS.

This opinion was prepared by the Scientific Committee using a self-tasking mandate. The following terms of reference are addressed in the opinion, with a focus on the Belgian context:

7. The benefits of using WGS for outbreak investigation
8. The benefits of using WGS for bacterial food safety risk assessment
9. Interpretation of the linking between contaminated food, human infections and the source of contamination in the food chain
10. Recommendations on the (further) implementation of WGS for managing food safety in Belgium
11. Validation of WGS methodology: importance, current status and expected evolutions
12. Requirements – technically and organizationally – to share WGS data in the context of food safety

#### Method

The opinion is based on information available in scientific literature and on expert opinion.

#### Opinion

Whole Genome Sequencing (WGS) provides new opportunities for improving bacterial food safety. At the same time, a number of concerns that an implementation in the frame of (inter)national surveillance and food safety management. The opinion focuses on different food borne pathogens including *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* and Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* (STEC). These

three pathogens are described in more detail, in the part on outbreak investigation (Annex 1), since they are the first and actual focus of the joint WGS database developed by EFSA and ECDC.

In this opinion, firstly the background of WGS is described and the technology is situated in the broader context of other bacterial and molecular methods. In the second part, the terms of reference related to the implementation of this technology are addressed with a particular focus on the Belgian context.

## Conclusion

In this opinion the Scientific Committee has situated the use of WGS for the detection of foodborne outbreaks and bacterial risk assessment and reflected on the implementation of WGS in the Belgian context. In the future, WGS will become the preferred method for bacterial food safety investigation, due to its high discriminatory power and the fading out of various older typing methods at an international level. Despite that WGS methods and pipelines for data analysis are still continuously evolving and improving, WGS is ready to start being used in routine outbreak investigation and surveillance activities. The Scientific Committee formulates several recommendations regarding the implementation of WGS in a Belgian context. To facilitate the transition to WGS for the analysis of food isolates, including AMR monitoring, a transition period can be implemented. This offers the labs time to get experience and sufficient infrastructure ready. The Scientific Committee advises the FASFC to (gradually) make the transition to WGS for the analysis of food isolates.

However, despite the advantages of WGS, some limitations still need to be taken into account for routine and uniform implementation. Efforts should be made to validate the WGS methodology and to facilitate data sharing. It is recommended that WGS-based results regarding strain comparison in outbreak investigations be interpreted by a multidisciplinary team (microbiologists, molecular biologists, bioinformaticians, epidemiologists) with sufficient expertise. It is also recommended that when using WGS for subtyping strains, as part of an outbreak investigation, validated or internationally recognized WGS methods and bioinformatics tools should be used, and interpreted according to the clonality of the pathogen under consideration and taken into account the epidemiological evidence and the metadata about the strains. These metadata include features such as geolocation data, isolation source, collection date, the organization performing collection, sample and strain names). It is recommended to be vigilant of the correct interpretation and communication on the responsibilities of the different actors (competent authority, FBO, consumer) in case of an outbreak. In this, it is important to communicate that zero risk in relation to bacterial food safety does not exist.

## Recommendations

The Scientific Committee makes the following recommendations:

- It is recommended to make the transition to WGS for the analysis of the food related isolates in Belgium, in the (near) future.
  - a. As various older typing methods are fading out at an international level, WGS will become the method of choice for strain typing (including serotyping for *Salmonella* and Shiga toxin producing *E. coli*) for national surveillance, source attribution and outbreak investigation. A transition period can be implemented, so that the labs can invest in appropriate infrastructure, can acquire the technical expertise needed, set-



up a standardized flow for implementation of the WGS method that can be validated and built experience.

- b. As WGS-AMR data can be obtained from the same WGS data used for typing, source attribution and outbreak investigation and that they can complement phenotypic data with extra information related to the genetic markers and be screened retrospectively it is recommended also for AMR monitoring to extract data from the available WGS data collected for other purposes. As it is recently been accepted as alternative method for the specific monitoring of ESBL- or AmpC- or carbapenemase-producing *E. coli* and *Salmonella* and the EURL-AR has elaborated a technical protocol to be followed, it is expected that at EU-level a further transition towards WGS-AMR can be expected.
- Sharing WGS data can be performed by centralizing the data nationally, at the Belgian level or (directly) internationally at the European level. At the Belgian level, for both the human clinical data and the agrofood data new infrastructure will need to be build. This new infrastructure is ideally conceived as a joint database or at least as two databases so that the joint data can be analyzed. By June 2022, the joint European database will be operational with communication between EFSA's WGS database (isolates from agrofood products) and ECDC's Tessa (clinical isolates from humans). The Belgian isolates from the agrofood chain and from human clinical origin will be able to be submitted to the respective databases.
  - It is recommended that WGS-based results regarding the comparison of strains in outbreak investigation (e.g. performed by SNP analysis or cgMLST) are interpreted by a multi-disciplinary team (microbiologists, molecular biologists, bio-informaticians, epidemiologists) with sufficient expertise. It is not possible to define a clear threshold for the number of genetic differences between strains from a common source. The WGS-derived data should be combined with metadata informative for the epidemiological interpretation of the outbreak. Furthermore, in order to establish an effective case definition (e.g. threshold) based on WGS, WGS data should be available on the circulating strains. This will provide a population against which clusters of potential outbreak strains can be assessed. Therefore, the current use of WGS during outbreak investigation should be extended to official surveillance programs.
  - In order to prevent outbreaks, especially caused by pathogens which are known to be able to persist in the processing environment (e.g. *L. monocytogenes*), it is recommended to investigate their presence in the food processing environment and to follow up the cleaning and disinfection process.
  - It is recommended to follow up the process of standardisation and validation of the WGS methodology and this for both the 'wet -lab' and 'dry-lab' part. Also for this technology the performed methods need to safeguard the results conform the criteria defined in the ISO/DIS 23418 (Microbiology of the food chain — Whole genome sequencing for typing and genomic characterization of foodborne bacteria — General requirements and guidance). It is recommended to carefully document the WGS-based results with sufficient metadata, so that, also in the case databases are updated, no information will get lost and traceability to the food source or the food business operator will remain.

- It is recommended to be vigilant of the correct interpretation and communication on the responsibilities of the different actors (competent authority, FBO, consumer) in case of an outbreak. In this, it is important to communicate that zero risk in relation to bacterial food safety does not exist.

## 1. Termes de référence

### 1.1. Question

Le développement technologique du *Whole Genome Sequencing* (WGS) offre de nouvelles possibilités pour la détection des causes des infections et intoxications d'origine alimentaire, la prévention des toxi-infections alimentaires, la caractérisation génotypique de la résistance antimicrobienne, la détermination de la virulence, le sérotypage des agents pathogènes, la comparaison et l'échange standardisé de données de séquence et l'évaluation des risques. Cependant, la mise en œuvre du WGS suscite également un certain nombre de préoccupations dans le cadre de la surveillance (inter)nationale et de la gestion de la sécurité alimentaire. L'avis porte sur différents agents pathogènes, notamment les bactéries *Salmonella*, *L. monocytogenes* et pathogène humain *E. coli* productrice de shigatoxines. Ces trois agents pathogènes sont le premier et le véritable objet de la base de données de WGS commune développée par l'EFSA et l'ECDC.

Le présent avis a été préparé par le Comité Scientifique dans le cadre d'un mandat d'autosaisine. Les points suivants seront abordés dans l'avis :

1. Les avantages de l'utilisation du WGS pour l'enquête des foyers épidémiques.
2. Les avantages de l'utilisation du WGS pour l'évaluation de la sécurité alimentaire en matière de risque bactérien.
3. L'interprétation du lien entre les aliments contaminés, les infections humaines et la source de contamination dans la chaîne alimentaire.
4. Les recommandations sur la (poursuite de la) mise en œuvre du WGS pour la gestion de la sécurité alimentaire en Belgique.
5. La validation de la méthodologie de WGS : importance, état actuel et évolutions attendues.
6. Exigences - sur le plan technique et organisationnel - pour partager des données de WGS dans le contexte de la sécurité alimentaire

### 1.2. Méthode

Cet avis repose sur les informations disponibles dans la littérature scientifique et sur l'avis d'experts. Les avancées de l'utilisation du WGS en épidémiologie sont résumées en tenant compte de l'avis des experts de l'ECDC (avis de 2016), du document de l'ECDC pour la stratégie de microbiologie de la santé publique 2018-2022 et de l'avis scientifique du groupe scientifique sur les dangers biologiques de l'EFSA en 2019. Une compilation approfondie de la littérature sur les enquêtes épidémiologiques a été réalisée en recherchant sur PubMed les articles originaux publiés en anglais entre 2017 et 2020, et en utilisant les mots clés « whole genome sequencing » ET « outbreak » ET [« *Listeria* » OU « *Salmonella enterica* » OU « STEC »]. La sélection a été affinée pour ne tenir compte que des rapports sur les foyers. La phylogénie traditionnelle de *L. monocytogenes* était basée sur Orsi *et al.*, 2011.

## 2. Abréviations et acronymes

Les abréviations suivantes sont utilisées (les définitions figurent à l'**annexe 1**) :

<b>AFSCA</b>	Agence fédérale belge pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire
<b>ANSES</b>	Agence Nationale Sécurité Sanitaire Alimentaire Nationale (France)
<b>ALS</b>	Archives des lectures de séquences
<b>CC</b>	Complexes clonaux
<b>CDC</b>	Centres de contrôle et de prévention des maladies
<b>cgMLST</b>	Core genome MLST
<b>CNR</b>	Centre national de référence
<b>DDBJ</b>	DNA Data Bank of Japan
<b>ddNTP</b>	Didésoxyribonucléotide
<b>ECDC</b>	Centre européen de prévention et de contrôle des maladies
<b>ECP</b>	Électrophorèse en champ pulsé
<b>EFSA</b>	Autorité européenne de sécurité des aliments
<b>ENA</b>	European Nucleotide Archive
<b>ERE</b>	Évaluation rapide des épidémies
<b>ESA</b>	Exploitant du secteur alimentaire
<b>EURL</b>	Laboratoire de référence européen
<b>FDA</b>	Food and drug administration (Agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux)
<b>Groupe BIOHAZ de l'EFSA</b>	Groupe de l'EFSA sur les risques biologiques
<b>GWAS</b>	Étude d'association pangénomique ( <i>Genome Wide Association Study</i> )
<b>ISO</b>	Organisation internationale de normalisation
<b>kb</b>	Millier de paires de base
<b>LAMP</b>	Amplification isotherme induite par boucle
<b>LNR</b>	Laboratoires nationaux de référence
<b>LPS</b>	Lipopolysaccharide
<b>Mb</b>	Million de paires de base
<b>MOAH</b>	Maladies d'origine alimentaire et hydrique
<b>MOST</b>	Metric Oriented Sequence Typer
<b>MLST</b>	Typage par analyse de séquences multilocus (Multilocus sequence typing)
<b>MLVA</b>	Multilocus variable-number tandem repeat analysis
<b>NCBI</b>	National Center for Biotechnology
<b>NGS</b>	Séquençage de nouvelle génération (Next Generation Sequencing)
<b>PCR</b>	Amplification en chaîne par polymérase
<b>PHE</b>	Public Health England
<b>PNU</b>	Polymorphismes de nucléotide unique
<b>RAM</b>	Résistance antimicrobienne
<b>rMLST</b>	Ribosomal MLST
<b>SciCom</b>	Comité scientifique institué auprès de l'AFSCA
<b>SNV</b>	Variant mononucléotidique
<b>STEC</b>	<i>Escherichia coli</i> productrice de shigatoxines
<b>TS</b>	Type de séquence
<b>TR</b>	Termes de références
<b>UFC</b>	Unités formant colonies

<b>WGA</b>	Amplification du génome entier (Whole Genome Amplification)
<b>wgMLST</b>	Whole genome MLST
<b>WGS</b>	<i>Whole Genome Sequencing</i>

Considérant les discussions lors de la réunion du groupe de travail les 26 mai, 26 août, 9 octobre et 4 décembre 2020, 18 janvier, 12 février, 5 mars, 16 avril et 4 octobre 2021, et lors des sessions plénières du Comité scientifique les 29 mai 2020, 26 mars, 23 avril 2021, 25 juin et 22 octobre 2021,

## le comité scientifique émet l'avis scientifique suivant :

### 3. Contexte

Cet avis traite du *Whole Genome Sequencing* (WGS), qui consiste à déterminer la séquence d'ADN du génome d'un organisme à partir d'un isolat. La "métagénomique", dans laquelle les séquences d'ADN sont déterminées à partir d'un échantillon biologique, qui peut contenir plusieurs micro-organismes, n'entre pas dans le scope du présent avis. Les virus, bien qu'également importants pour les infections d'origine alimentaire, n'entrent pas dans le champ d'application de cet avis. Cet avis concerne le WGS des bactéries, car les bactéries sont la première priorité de l'EFSA et de l'ECDC.

Le développement technologique du *Whole Genome Sequencing* (WGS) offre de nouvelles possibilités pour l'identification des causes des infections et intoxications d'origine alimentaire, la prévention des foyers de toxi-infections alimentaires, la caractérisation génotypique de la résistance antimicrobienne, la détermination de la virulence, le sérotypage des agents pathogènes, la comparaison et l'échange standardisé de données de séquence et l'évaluation des risques. Par-delà les avantages, les limites et les défis doivent encore être pris en compte pour une mise en œuvre systématique et uniforme.

En raison des avantages qu'il offre, il ne fait aucun doute que le WGS deviendra la méthode privilégiée des autorités de sécurité des aliments, de la communauté scientifique et des opérateurs du secteur alimentaire pour les enquêtes sur la sécurité des aliments en matière de risque bactérien.

Dans cet avis, le contexte du WGS est décrit et placé dans le contexte plus large d'autres méthodes moléculaires et d'identification bactérienne connexes, notamment la phylogénie qui est importante dans les enquêtes sur les foyers de toxi-infections alimentaires. Le point 4 (contexte scientifique du WGS) de cet avis est uniquement disponible en anglais, les autres parties de l'avis sont disponibles en anglais, néerlandais et français. Dans une deuxième partie, les termes de référence liés à la mise en œuvre de cette technologie sont abordés en se concentrant plus particulièrement sur le contexte belge. L'avis porte sur différents agents pathogènes, notamment les bactéries *Salmonella*, *L. monocytogenes* et pathogène humain *E. coli* productrice de shigatoxines (STEC). Ces trois agents pathogènes sont abordés parce qu'ils constituent le premier et véritable objet de la base de données de WGS commune développée par l'EFSA et l'ECDC.

## **État actuel de l'implémentation du WGS et de l'échange de données en Belgique**

L'implémentation de WGS dans les applications de routine pour la surveillance et le monitoring, n'a pas été faite de manière harmonisée en Belgique. Seuls certains laboratoires ont adopté cette technique.

Actuellement, les données WGS belges pour les isolats humains cliniques sont stockées localement dans les bases de données des laboratoires et partagées sur une base volontaire dans des bases de données publiques telles que Enterobase, NCBI et ENA. Les données WGS disponibles pour le secteur agro-alimentaire sont limitées et stockées localement par les laboratoires qui effectuent les analyses. Comme il n'existe pas de base de données WGS centralisée pour les isolats agroalimentaires en Belgique, les données WGS ne sont utilisées que pour des échanges de données inter-laboratoires spécifiques dans le cadre d'études particulières.

En raison de l'approche hautement sélective et ciblée de l'utilisation du WGS pour les isolats alimentaires en Belgique, la technique est actuellement principalement utilisée comme une méthode à haute résolution pour confirmer un foyer et seulement dans des cas spécifiques pour détecter de manière proactive un futur foyer potentiel.

## **4. Bref contexte sur le WGS dans le contexte de la sécurité alimentaire au niveau bactérien**

**Un contexte détaillé du WGS dans le contexte de la sécurité alimentaire au niveau bactérien est disponible dans l'annexe 1.**

Le séquençage de l'ADN est le processus par lequel on détermine la séquence des nucléotides, les éléments constitutifs de l'ADN, dans le génome. Le WGS détermine la séquence génomique complète d'un isolat bactérien et remplace de plus en plus les techniques traditionnelles de typage et de caractérisation des bactéries, en fournissant des réponses plus rapides et plus précises.

Le WGS est réalisé en deux processus : 1) une première partie en « laboratoire humide » consacrée à la sélection des isolats, à l'extraction de l'ADN, à la préparation des banques et au séquençage qui génère des données brutes ; 2) une seconde partie en « laboratoire sec » où différents outils bioinformatiques sont utilisés pour le contrôle de la qualité, pour l'assemblage du génome et pour d'autres analyses (par exemple, pour démontrer la parenté des souches dans le cadre d'enquêtes épidémiologiques, pour rechercher la présence de gènes de résistance antimicrobienne (RAM), de gènes associés à la virulence et à la pathogénicité, pour déterminer le sérotype). Le WGS offre également la possibilité de stocker les données dans le temps selon les principes du « FAIR data » (Findable, Accessible, Interoperable and Reusable, soit « facile à trouver, accessible, interopérable et réutilisable » ; <https://www.nature.com/articles/ng.3910>).

**Le WGS peut être utilisé pour :**

### **A) prédire le sérotype et la résistance antimicrobienne**

Le sérotypage est le plus souvent une étape précoce dans un schéma de typage et joue un rôle important dans les enquêtes et la surveillance des agents pathogènes dans le monde entier. En outre,

il a été intégré dans les règlements de l'UE. Plusieurs solutions basées sur le WGS ont été décrites pour remplacer le sérotypage conventionnel.

- Pour *Salmonella*, la base de données web *Salmonella* Typing Resource (SISTR) et *Salmonella*TypeFinder sont disponibles gratuitement et offrent un degré de précision élevé par rapport au sérotypage conventionnel (> 90 % pour > 85-90 % des sérotypes).
- Le sérotypage d'*E. coli* basé sur le WGS est possible grâce à la base de données et à l'outil web SeroTypeFinder, qui sont en libre accès et qui sont capables de confirmer les résultats du sérotypage conventionnel et de clarifier certains résultats douteux obtenus avec le sérotypage conventionnel.
- Le sérogroupage de *L. monocytogenes* peut être effectué sur la base des données de WGS en utilisant les mêmes gènes que ceux utilisés par la méthode PCR multiplex conventionnelle.

Dans la plupart des cas, il a été démontré que le WGS prédit avec précision les propriétés phénotypiques de la RAM, ce qui permet de mettre rapidement en évidence les souches isolées pour une multitude de gènes connus impliqués dans la résistance. Un autre avantage du WGS pour le typage de la RAM est qu'il demeure possible de réaliser des analyses rétrospectives sur les données de WGS stockées. Cela permet d'analyser la présence de gènes ou de mécanismes de résistance basés sur les mécanismes de RAM récemment découverts.

## B) affiner l'évaluation des risques

Le WGS offre également la possibilité d'affiner l'évaluation des risques actuels pour d'importants pathogènes bactériens d'origine alimentaire. L'évaluation du risque bactérien, dans un contexte de sécurité alimentaire, est un processus scientifique structuré visant à déterminer le risque sanitaire associé à un danger bactérien spécifique dans les aliments. L'évaluation du risque bactérien comprend quatre étapes : l'identification du danger, la caractérisation du danger, l'estimation de l'exposition et la caractérisation du risque. L'analyse du risque, quant à elle, a pour objectif général de minimiser les risques d'origine alimentaire pour les consommateurs (FAO/OMS, 2007, EFSA<sup>1</sup>). Grâce à sa haute résolution, le WGS peut être utilisé pour définir, par le biais d'une étude d'association pangénomique (*Genome Wide Association Study* - GWAS), des marqueurs/indicateurs permettant de prédire les phénotypes associés aux caractéristiques de pathogénicité, de croissance et de survie des agents pathogènes bactériens d'origine alimentaire (EFSA, 2019). Ainsi, le WGS a le potentiel d'impacter l'identification des dangers et de concentrer le processus d'évaluation des risques et les conséquences réglementaires à certaines souches appartenant à la même espèce. Le WGS peut également avoir un impact sur l'évaluation de l'exposition.

Les possibilités offertes par le WGS pour l'évaluation des risques futurs sont illustrées par deux exemples (pour plus d'informations, voir l'annexe 1 partie 1.5):

- Pour le « *Bacillus cereus* group » (ce groupe comporte plusieurs espèces de *Bacillus*, dont *B. cereus*, *B. anthracis* et *B. thuringiensis*), le WGS, utilisant des marqueurs génétiques, aurait

---

<sup>1</sup><https://www.efsa.europa.eu/en/interactive-pages/riskassessment/RiskAssessment>, consulté Jan. 12, 2021

le potentiel de discriminer les souches potentiellement pathogènes (celles impliquées dans le syndrome diarrhéique et/ou émétique) des souches non pathogènes.

- Pour *L. monocytogenes*, le WGS aurait le potentiel de relier certaines souches contenant certains marqueurs génétiques à des propriétés telles que le pouvoir pathogène, la virulence, la résistance au stress et de prédire comment la virulence peut être affectée pour un sous-ensemble de souches par des paramètres physicochimiques tels que la température, le pH, le stress osmotique ou la teneur en graisse.

Par-delà les avantages, certaines limites doivent encore être prises en compte pour une mise en œuvre systématique et uniforme. Il n'y a actuellement pas de consensus sur la méthodologie optimale pour analyser les données de WGS et les méthodes appliquées. En outre, seuls les marqueurs de la résistance « connus » peuvent être recherchés, car les mutations ou les gènes de résistance inconnus ou nouveaux ne sont pas présents dans la base de données. Il est donc possible que certaines souches aient été classées comme sensibles à certains antibiotiques alors qu'elles sont en réalité résistantes. Cette limitation sera progressivement résolue grâce aux efforts continus de séquençage et à la mise à jour des bases de données avec les gènes ou les mutations liés aux données phénotypiques.

### **C) détecter les foyers de toxi-infection alimentaire**

Des clusters de cas humains pourraient mener à une enquête des foyers épidémiques. Au cours de l'enquête, des entretiens permettent de cibler la source alimentaire commune potentiellement responsable des toxi-infections à échantillonner. Les méthodes conventionnelles de typage ou le WGS sont utilisés pour relier les isolats alimentaires ou environnementaux au cluster humain. Ce modèle est entièrement basé sur des données épidémiologiques. Avec l'introduction du WGS à résolution beaucoup plus élevée, la détection d'un cluster comprenant à la fois des isolats humains et des isolats alimentaires ou environnementaux pourrait déclencher une enquête des foyers épidémiques et ainsi orienter l'enquête des foyers épidémiques, complétant et inversant le premier modèle.

### **D) définir les foyers épidémiques**

Dans le cadre d'une enquête des foyers épidémiques, il est important de trouver l'origine de l'infection, d'identifier les cas concernés et de déterminer les voies de transmission. Par conséquent, la première étape de la plupart des enquêtes sur les foyers de toxi-infections alimentaires consiste à isoler et à identifier l'agent pathogène à partir d'une source alimentaire suspecte, de l'environnement et des patients. Les méthodes de typage doivent permettre de différencier les souches à un niveau inférieur à celui de l'espèce ou de la sous-espèce afin de vérifier si les souches sont identiques ou non.

Les techniques de phénotypage détectent les caractéristiques exprimées par le micro-organisme (exemples : sérotypage, profilage RAM et détection de toxines), tandis que les techniques de typage moléculaire sont basées sur l'analyse du génome de l'organisme. Elles peuvent être non séquentielles, par exemple le polymorphisme de taille des fragments de restriction (RFLP), l'électrophorèse en champ pulsé (ECP), la réaction de polymérisation en chaîne sur des séquences répétitives (rep-PCR) et l'amplification aléatoire polymorphique de l'ADN (RAPD). Les techniques basées sur les séquences comparent le génome entier pour les polymorphismes de nucléotide unique (PNU) ou comparent les



différences entre les gènes pour un sous-ensemble donné de gènes (MLTS ou Multi-Locus Sequence Typing, « typage par analyse de séquences multi-locus »). Il peut s'agir de gènes appartenant au génome de base (cg) (cgMLST) qui est partagé par toutes les bactéries analysées de la même espèce (généralement > 1000 gènes), ou appartenant au génome entier (wg) (wgMLST) (généralement > 3000 gènes). A titre de comparaison, le MLST classique a comparé les informations sur la séquence de 7 gènes. Cependant, aucune corrélation à 100 % n'a pu être trouvée entre certaines méthodes conventionnelles, telles que l'ECP, et les résultats du typage basé sur le WGS. Dans la période de transition durant laquelle les méthodes conventionnelles et celles basées sur le WGS sont toutes deux appliquées, la divergence entre les différentes méthodes pourrait entraver les résultats de la comparaison des souches effectuée avec différentes méthodologies. Il est prévu que la plupart des méthodes de typage conventionnelles soient remplacées par des méthodes basées sur le WGS.

Le WGS pour le traçage des sources et les enquêtes épidémiologiques repose sur la comparaison du WGS des souches cliniques et des souches liées à l'agroalimentaire. L'utilisation d'analyses basées sur les PNU ou sur le MLST a montré une grande concordance lors de l'évaluation du nombre de clusters identifiés, même si les analyses basées sur les PNU ont une résolution plus élevée car elles prennent en compte chaque polymorphisme nucléotidique dans l'analyse. Elles n'utilisent pas de schéma de typage mais dépendent d'un génome de référence optimal bien choisi. Un point important est la recherche d'un seuil définissant le nombre de différences nucléotidiques ou alléliques autorisées entre les isolats pour qu'ils soient toujours considérés comme appartenant à un seul groupe. Toutefois, ce seuil ne doit pas être absolu, mais reste ajustable en fonction de la réévaluation de toutes les données WGS et du lien entre les données WGS et les informations épidémiologiques. Ces métadonnées comprennent des informations sur le lieu et le moment où un échantillon a été collecté, le type d'environnement dont il provient et les propriétés de l'échantillon. Ces informations comprennent, sans s'y limiter, les données de géolocalisation, la source d'isolement, la date de collecte, l'organisation effectuant la collecte et les noms des échantillons et des souches (Chang *et al.*, 2016). En outre, afin d'établir une définition de cas efficace (par exemple, un seuil) basée sur le WGS, les données de WGS doivent être disponibles pour les souches en circulation. Cela fournira une population qui permettra d'évaluer les clusters de souches responsables de foyers potentiels.

Considérés par pathogène, les points d'attention suivants sont soulevés dans le contexte de la recherche de la source et des enquêtes des foyers épidémiques, sur base d'une étude bibliographique :

- Le WGS pour la *L. monocytogenes* est particulièrement utile pour le traçage des sources.
- Le nombre d'études utilisant le WGS pour l'analyse des STEC est encore limité pour permettre une comparaison solide avec les méthodes traditionnelles de sous-typage.
- Le WGS de la *Salmonella* pour l'enquête des foyers épidémiques remplace progressivement les méthodes traditionnelles de sous-typage car le WGS offre une meilleure résolution, ce qui est nécessaire car, par exemple, certains sérovars sont très clonaux. Cependant, en raison du nombre élevé de sérotypes présents au sein de l'espèce *S. enterica*, l'établissement d'un pipeline consensuel est difficile.

- Les souches du biotype *Y. enterocolitica* pathogène pour l'homme sont plutôt clonales, ce qui rend la différenciation des souches difficile à l'aide des méthodes traditionnelles de typage génétique. Le WGS pourrait donc être utile pour détecter une plus grande variation entre les souches. Actuellement, seule une sélection de souches humaines de *Yersinia* est en cours de séquençage en Belgique.

### **E) partager les données aux niveaux national et international**

Les réseaux de collaboration visant à échanger des données de typage conventionnel entre les secteurs primaire, alimentaire et de la santé publique ont été perturbés par l'introduction du WGS, puisque certains laboratoires ont introduit la technique, tandis que d'autres n'ont pas pu le faire. On s'attache de plus en plus à rétablir cet échange de données, en se concentrant sur l'échange de données de WGS, en accordant une attention suffisante à l'interopérabilité des différents systèmes de données et ce, aux niveaux national, européen et mondial.

En raison de l'approche très sélective et ciblée de l'utilisation du WGS pour les isolats alimentaires en Belgique, la technique est pour l'instant surtout utilisée comme une méthode à haute résolution pour la confirmation des foyers, plutôt que pour leur détection. Comme il n'existe pas de base de données WGS centralisée pour les isolats agroalimentaires en Belgique, les données WGS sont stockées dans des bases de données locales, utilisées uniquement pour des échanges de données spécifiques entre laboratoires dans le cadre d'enquêtes spécifiques.

Actuellement, dans le cadre de l'enquête des foyers épidémiques, les données européennes de WGS sont communiquées via les réseaux des laboratoires de référence européens (EURL) ou via le réseau EPIS-FWD (Epidemic Intelligence Information System on Food- and Waterborne Diseases and Zoonoses) de l'ECDC. En 2021, une nouvelle base de données commune ECDC-EFSA pour les données de typage, axée sur le WGS, devrait être opérationnelle, permettant aux États membres de soumettre des données soit à la base de données de WGS de l'EFSA (pour les souches liées à l'agroalimentaire), soit au système TESSy de l'ECDC (pour les souches humaines cliniques).

À l'échelle mondiale, plusieurs bases de données publiques sont disponibles pour les séquences nucléotidiques, comme la GenBank du National Center for Biotechnology Information (NCBI), l'European Nucleotide Archive (ENA) et la DNA Data Bank of Japan (DDBJ). D'autres bases de données publiques (par exemple Enterobase) et commerciales (Ridom SeqSphere+, BioNumerics) sont disponibles pour faciliter l'introduction et l'utilisation des analyses de WGS par l'utilisateur final. Aux États-Unis, les secteurs de la santé publique (PulseNet des CDC) et des produits primaires et alimentaires (GenomeTrakr de la FDA) ont déjà effectué la transition vers la surveillance WGS, en mettant en place des systèmes interopérables entre les agences, avec des bases de données accessibles au public.

## F) identifier les « souches persistantes » le long de la chaîne alimentaire

Les produits alimentaires peuvent être contaminés par des bactéries pathogènes par l'intermédiaire des employés, d'ingrédients contaminés ou en raison de la contamination de l'environnement de production des aliments. Dans de nombreux cas, la contamination des produits alimentaires par l'environnement de production peut être à l'origine d'une contamination récurrente, souvent à une fréquence irrégulière. Cette contamination récurrente peut se produire si l'agent pathogène est persistant dans l'environnement de production alimentaire. Les souches responsables de ces contaminations récurrentes sont appelées « souches persistantes<sup>2</sup> » et le phénomène est appelé « persistance ». Ce sont surtout ces souches persistantes, qui causent parfois des maladies humaines, qui pourraient être découvertes par la mise en œuvre de la méthodologie de WGS, car celle-ci est particulièrement capable de relier les souches dans le temps et dans de grandes régions géographiques. L'élimination des souches persistantes est un défi pour les exploitants du secteur alimentaire. Elle comprend des tests environnementaux approfondis pour détecter et identifier les souches persistantes et trouver la source environnementale, ainsi que des actions d'éradication et d'atténuation telles que des protocoles de nettoyage et de désinfection intensifiés. Pour l'identification des souches persistantes, l'exploitant du secteur alimentaire peut appliquer différentes méthodes de typage et ne s'appuiera pas nécessairement sur le WGS.

## 5. Réponse aux termes de référence

### Terme de référence 1 : Les avantages de l'utilisation du WGS pour l'enquête des foyers épidémiques

Actuellement, en Belgique, une enquête des foyers épidémiques peut être déclenchée par l'isolement d'isolats cliniques humains groupés menant à une source alimentaire possible sur la base d'informations épidémiologiques. Si un isolat alimentaire peut être obtenu, le typage moléculaire permet d'identifier le lien entre l'homme et l'isolat alimentaire. Pour l'instant, le WGS est utilisé pour confirmer un foyer et seulement dans des cas spécifiques pour détecter de manière proactive un futur foyer potentiel.

Le WGS présente des avantages évidents pour améliorer l'enquête des foyers épidémiques. Pour cela, il est nécessaire que le WGS des isolats alimentaires soit réalisé de manière systématique, comme c'est déjà le cas pour les souches cliniques humaines. Ces efforts de WGS, indépendants des foyers clinique humaine, ont le potentiel de détecter de manière proactive l'épidémie sans avoir besoin de regrouper d'abord les cas cliniques, par exemple en se basant sur l'identité du WGS d'un isolat alimentaire avec le WGS d'un isolat humain clinique présent dans la base de données. Ainsi, des foyers non découvertes auparavant peuvent être détectés et des dommages humains et économiques peuvent être évités. Cela est dû au potentiel supérieur du WGS pour regrouper les isolats humains et alimentaires.

Le WGS a le pouvoir de relier des isolats sur une **plus longue période** (également rétrospective) et sur une **région géographique beaucoup plus vaste** (groupe BIOHAZ de l'EFSA, 2019). Cela est dû à la possibilité de stocker les données de WGS dans des bases de données, données qui peuvent être facilement partagées et analysées par des outils bioinformatiques pour trouver des correspondances entre les isolats (humains, alimentaires, animaux et/ou environnementaux). Lorsque de **nouveaux cas**

---

<sup>2</sup> Souches responsables de contaminations récurrentes observées le long de la chaîne alimentaire.

**cliniques** sont identifiés, il est alors possible de réanalyser les **données historiques**. Cela peut être important, par exemple pour découvrir des foyers s'étendant sur une longue période. Grâce à l'utilisation du WGS, les cas sporadiques peuvent être liés, sur une grande région géographique et sur une longue période, aux mêmes produits alimentaires et sont, depuis peu, considérés comme des foyers. Ces résultats peuvent orienter l'enquête des foyers épidémiques plutôt que l'inverse.

Ceci est particulièrement important pour *L. monocytogenes*, connue jusqu'à présent comme provoquant principalement des infections sporadiques et dans une moindre mesure des foyers. La raison est que les infections humaines à listéria sont en grande partie liées au statut immunitaire du consommateur (groupe BIOHAZ de l'EFSA, 2018). Ainsi, un produit alimentaire contaminé n'infectera qu'un nombre très limité de consommateurs sensibles dans un laps de temps et une région géographique donnés. En outre, la période d'incubation après l'ingestion de l'aliment contaminé peut durer des jours, voire des semaines, ce qui rend difficile l'établissement d'un lien entre les cas humains et une source spécifique. Les données épidémiologiques comme point de départ des enquêtes sur les foyers ne permettent pas, et n'ont pas permis dans la plupart des cas, de relier ces cas sporadiques basés sur la consommation d'un produit alimentaire commun. Pour cette raison, les cas isolés de listériose ont été retirés de la liste des infections à déclaration obligatoire en Flandre, tandis que l'on essaie toujours de mener l'enquête à Bruxelles et en Wallonie. Aujourd'hui, les infections rares peuvent, grâce aux données de WGS, être regroupées dans le temps et dans une région géographique étendue. Il est également important de noter que la *L. monocytogenes* a le potentiel de persister dans l'environnement de l'usine de transformation des aliments pendant des années et, qu'à partir de cet environnement, elle peut contaminer le produit alimentaire avec la même souche pendant une longue période, voire des années. Grâce au WGS, il devient possible de relier les cas humains causés par ces souches persistantes de *L. monocytogenes* aux produits alimentaires contaminés.

## **Terme de référence 2 : Les avantages de l'utilisation du WGS pour l'évaluation de la sécurité alimentaire en matière de risque bactérien**

- Un seul flux de travail de WGS peut être utilisé pour l'enquête des foyers épidémiques, le **sérotypage et l'analyse de la RAM** et ne nécessite pas de ressources supplémentaires importantes. Il est probable que l'on s'oriente vers le WGS pour le sérotypage et la détermination de la RAM (résistance antimicrobienne) au niveau international. Il a été démontré que le WGS permet de mettre rapidement en évidence les souches isolées pour une multitude de gènes connus impliqués dans la résistance, ce qui permet de prédire avec précision les propriétés phénotypiques de la RAM. Il existe un risque potentiel que, dans certains cas, des isolats soient identifiés comme sensibles aux antibiotiques à partir de données de séquence en raison du manque d'expression fonctionnelle des gènes, alors qu'ils sont en réalité résistants. Cette limite sera progressivement résolue grâce aux efforts continus de séquençage associés à l'observation phénotypique et aux évolutions de l'analyse des données.
- Il sera possible d'effectuer des **requêtes rétrospectives** pour dépister la présence de gènes ou de mécanismes de résistance sur base des mécanismes de résistance à la RAM récemment découverts. Cela permettra d'étudier la présence de gènes de résistance antimicrobienne récemment découverts dans notre région sur la période des données historiques. L'investissement

dans la réalisation de WGS est donc également utile à la lumière des développements futurs intéressants.

- Une autre opportunité est que, à partir des données WGS par le biais d'une étude d'association pangénomique (*Genome Wide Association Study* - GWAS), des informations peuvent être collectées sur les marqueurs/indicateurs génétiques pour **prédire les phénotypes** liés à la pathogénicité de souches particulières, appartenant à une espèce donnée (EFSA, 2019). On pense que cela pourrait avoir un potentiel dans le cas d'un affinement de l'évaluation des risques en se limitant aux souches ayant le potentiel pathogène le plus élevé. A l'avenir, cela pourrait conduire au remplacement total, ou partiel, des tests de toxicité/pathogénicité sur les animaux par des données de WGS. Il faut cependant souligner que la simple présence de gènes impliqués dans la virulence ou la production de toxines ne signifie pas que ces gènes seront exprimés. Il est difficile de déterminer la probabilité d'une expression génétique pertinente pour la pathogénicité à partir des seules données de séquençage de l'ADN. Le WGS n'est pas un outil approprié pour détecter les niveaux d'expression ; d'autres technologies « -omiques » (par exemple, la transcriptomique ou la protéomique) sont mieux adaptées pour cela.
- Bien que, pour l'instant, l'évolution soit encore difficile à prévoir, le WGS pourrait aider à mieux **distinguer les bactéries non pathogènes/utiles des bactéries dangereuses** dans des groupes d'espèces étroitement apparentés. Cela pourrait être particulièrement intéressant pour des agents pathogènes comme *L. monocytogenes*, les membres du groupe *B. cereus* et les *Yersinia* spp.
  - Par exemple, pour *L. monocytogenes*, des données sont collectées reliant des données phénotypiques sur la virulence et le potentiel de croissance à basse température à des marqueurs génétiques (Fritsch *et al.*, 2019). Les marqueurs génétiques associés à certaines de ces caractéristiques phénotypiques importantes ont déjà été clarifiés.
  - Un autre exemple est celui des membres du groupe *Bacillus cereus* qui contient les précieuses souches de *Bacillus thuringiensis*, utilisées comme biopesticides depuis plus de 60 ans, et l'agent pathogène *Bacillus anthracis* ou les souches émétiques et diarrhéiques de *B. cereus* responsables des maladies d'origine alimentaire. De même, savoir ce qui rend une bactérie pathogène pour l'homme et quels sont les marqueurs génétiques impliqués sont deux sujets qui pourraient être approfondis à l'aide du WGS combiné à d'autres techniques « -omiques », à des essais en culture cellulaire, à des simulations dans des modèles de tube digestif gastro-intestinal ou à des données épidémiologiques.

Pour les souches de *Yersinia* spp., il existe une longue liste de gènes de virulence possibles, mais aucune (bonne) corrélation avec leur pathogénicité potentielle. De ce fait, la signification pour la santé humaine est souvent incertaine. Il est probable que divers facteurs de virulence ne soient toujours pas détectés à l'heure actuelle. La comparaison des données de WGS des isolats cliniques et agroalimentaires pourrait aider à préciser les marqueurs génétiques de la pathogénicité de la *Yersinia* spp., mais il faudra disposer d'un ensemble important de données sur les souches avec des métadonnées et un contexte appropriés.
- Le WGS pourrait également jouer un rôle important dans l'**évaluation de la pathogénicité** de certains agents pathogènes, tels que les STEC. Un avis de l'EFSA a clairement indiqué en 2019

que toutes les souches de STEC sont potentiellement pathogènes pour l'homme et capables de provoquer des maladies (graves). Si pendant de nombreuses années, le sérotypage a été, le principal instrument d'évaluation de la pathogénicité de ces bactéries, le sous-typage des gènes codant pour les shigatoxines et des gènes de virulence accessoires s'est révélé plus fiable. Le WGS est la technique idéale pour réaliser ces caractérisations génomiques en un seul flux de travail.

### **Terme de référence 3 : L'interprétation du lien entre les aliments contaminés, les infections humaines et la source de contamination dans la chaîne alimentaire**

L'avis de l'EFSA stipule que le lien entre les aliments contaminés et les infections humaines doit toujours être établi par une **combinaison de données de WGS et de données épidémiologiques** (EFSA BIOHAZ panel, 2019). L'analyse de WGS seule ne serait pas suffisamment concluante pour relier avec certitude deux souches uniquement sur base d'un seuil bien défini de leurs différences génétiques (groupe BIOHAZ de l'EFSA, 2019). En outre, la définition de ce seuil dépend de divers facteurs tels que l'espèce ou la sous-espèce, la date d'isolement et le taux d'évolution. Comme ces facteurs peuvent être inconnus, la fixation d'un seuil reste un défi. Pour commencer, un nombre suffisamment important d'isolats d'une espèce ou sous-espèce donnée doit être séquencé afin de créer une collection de souches qui circulent dans les écosystèmes concernés. Une fois que cette population a été établie, elle peut aider à définir les valeurs seuils des différences génétiques pour l'inclusion ou l'exclusion des isolats dans un foyer.

Il est possible qu'une personne soit infectée en consommant un produit alimentaire contaminé par une bactérie pathogène à un taux inférieur au critère microbiologique légal (par exemple 100 UFC/ml ou g pour *L. monocytogenes*) au moment de la consommation (groupe BIOHAZ de l'EFSA, 2020) et que, dans le même temps, d'autres consommateurs (en bonne santé) soient exposés à des quantités plus élevées et ne développent pas de maladie ou de symptômes graves. Le risque d'être infecté par un agent pathogène d'origine alimentaire n'est pas directement lié à une relation dose-réponse bien établie entre le niveau de contamination des produits alimentaires et la maladie humaine. À titre d'illustration, les facteurs décrits ci-dessous influencent le risque d'être infecté.

- **La susceptibilité de l'hôte et donc les facteurs liés à l'hôte** sont extrêmement importants car certaines personnes (jeunes, personnes âgées, femmes enceintes, personnes immunodéprimées) sont plus susceptibles d'être infectées et de tomber malades à la suite de la consommation d'un produit alimentaire contaminé. Il convient de noter que la capacité immunitaire et/ou les médicaments pris par le consommateur (par exemple, la prise d'inhibiteurs de la pompe à protons) sont au moins aussi importants que le niveau de contamination de l'agent pathogène dans le produit alimentaire à infecter (HGR/SciCom, 2016, Kvistholm Jensen *et al.*, 2017).
- **La survie/la croissance de l'agent pathogène** peut être influencée par de multiples facteurs et peut également être due à une mauvaise pratique du consommateur, hors de la responsabilité du producteur de denrées alimentaires. Le traitement du produit alimentaire par le consommateur fera également une différence (par exemple, chauffage insuffisant de produits alimentaires non prêts à être consommés; consommation sous forme crue de légumes congelés qui étaient destinés à être cuits avant consommation). Le type d'aliment a également

un impact. Par exemple, les aliments gras à faible teneur en eau, comme le chocolat ou le beurre de cacahuète, favorisent la survie gastro-intestinale de faibles niveaux de *Salmonella* et provoquent donc des infections (Finn *et al.*, 2013). De même, le moment de l'ingestion peut faire une différence, car lorsque l'on commence à manger, les premiers éléments passent rapidement dans l'estomac (environnement acide) et les bactéries associées ont plus de chances de survivre (Lehmacher *et al.*, 1995, Tompkins *et al.*, 2011).

Il n'est pas facile de collecter les données citées ci-dessus, ce qui peut rendre difficile la détermination du niveau de responsabilité du producteur de denrées alimentaires lors de ces infections d'origine alimentaire. Le principe de "l'abus raisonnablement prévisible" a ses limites pour un exploitant du secteur alimentaire. La sécurité des aliments est une responsabilité partagée à travers la chaîne alimentaire, de la fourche à la fourchette.

#### **Terme de référence 4 : Les recommandations sur la mise en œuvre (ultérieure) du WGS pour la gestion de la sécurité alimentaire en Belgique**

Une large mise en œuvre du WGS est possible et deviendra inévitable dans un contexte international. Il convient de noter que l'ancienne technique ECP, reconnue au niveau international comme méthode de typage pour plusieurs pathogènes bactériens, n'est plus soutenue. En outre, plusieurs anciennes méthodes de typage sont en train de disparaître au niveau international. Il est donc important de faire la transition vers le WGS des isolats liés à l'alimentation.

Les informations épidémiologiques peuvent donner lieu à la décision de réaliser un WGS sur une sélection de souches dans le cadre des programmes de surveillance nationaux, et cela peut dépendre de l'agent pathogène et de l'objectif du monitoring/surveillance. Pour *L. monocytogenes*, le nombre d'isolats cliniques et d'isolats alimentaires obtenus dans le cadre du programme de contrôle de l'AFSCA est limité (environ 70 isolats cliniques humains et environ 150 isolats alimentaires annuellement). La situation des souches d'*E. coli pathogènes* est comparable (environ 100 isolats cliniques humains et environ 100 isolats alimentaires annuellement). Pour la *Salmonella*, il y a beaucoup plus d'isolats (environ 3000 isolats cliniques humains, environ 350 isolats alimentaires et environ 850 isolats d'animaux producteurs d'aliments annuellement).

Il existe deux possibilités pour réaliser la transition des méthodes de typage traditionnelles vers le WGS :

- Combinaison de WGS et de méthodes de typage conventionnelles, éventuellement durant une période de transition. Le séquençage peut être effectué sur une sélection d'isolats agroalimentaires et cette sélection peut éventuellement être élargie au fil du temps. Cette sélection peut être basée sur les résultats obtenus par les méthodes de typage conventionnelles ou sur les données épidémiologiques. La pratique actuelle du typage des souches humaines peut servir de guide. Pour les souches provenant d'agents pathogènes liés à un grand nombre de cas cliniques humains, une sélection de souches pour le WGS est actuellement effectuée grâce à des techniques de typage plus anciennes. C'est le cas, par exemple, pour le typage des souches de *Salmonella* Enteritidis et Typhimurium qui est effectué par MLVA. La même pratique pourrait être proposée pour les souches agroalimentaires. Par conséquent, les anciennes techniques resteront utilisées pendant

un certain temps encore. Une phase de transition présente l'avantage pour les laboratoires d'acquérir de l'expérience et de préparer les infrastructures nécessaires. C'est également un avantage pour les exploitants du secteur alimentaire qui peuvent ainsi être informés et préparés de manière appropriée. L'inconvénient est que l'utilisation combinée de différentes techniques pendant une phase de transition compliquera l'analyse des clusters entre les souches humaines et agroalimentaires et même entre les souches agroalimentaires elles-mêmes.

- Un passage direct à l'utilisation du WGS comme seule technique de typage des agents pathogènes. Pour cela, il faudrait que des infrastructures et des compétences suffisantes (laboratoires « humide » et « sec ») soient mises à disposition immédiatement. Cela nécessite un investissement initial important. Le passage au sérotypage devrait également être validé et accepté par la législation européenne.

Dans les deux cas, il ne faut pas négliger le besoin de stockage de données volumineuses, ce qui nécessitera un investissement supplémentaire, que ce soit au niveau local ou centralisé. Pour pouvoir utiliser les données historiques dans les bases de données de WGS, il sera important de considérer la comparabilité des anciennes données avec les plus récentes lorsque des améliorations technologiques du WGS seront mises en œuvre.

Il est recommandé d'harmoniser les analyses et les bases de données pour les souches d'origine agroalimentaire et humaine, afin de pouvoir comparer les données des deux domaines. La base de données devra pouvoir interagir avec la base de données contenant les données du WGS des isolats humains cliniques pour être utile à la confirmation des infections d'origine alimentaire et à l'enquête des foyers épidémiques. Les données épidémiologiques sont importantes et devraient être utilisées comme métadonnées avec les données de WGS.

Pour les exploitants du secteur alimentaire, d'autres méthodes de typage plus simples et moins coûteuses sont encore utiles pour identifier les souches qui persistent dans leur environnement de transformation. Elles peuvent être complétées par une analyse de WGS sélective lorsque cela est souhaité et utile. Les isolats de l'environnement de production peuvent être typés, ce qui permet d'identifier les points de contrôle et d'améliorer les procédures HACCP. Pour obtenir une image claire de ce qui se passe dans l'entreprise, il convient de mettre en place un plan de surveillance approprié à l'environnement de transformation et de prélever un nombre suffisant et constant d'échantillons environnementaux sur une période définie.

La transparence, la responsabilité morale et la responsabilité juridique sont des aspects importants auxquels il convient de réfléchir lors de la poursuite de la mise en œuvre du WGS pour la gestion de la sécurité sanitaire des aliments. La traçabilité à l'aide du WGS, combinée aux données épidémiologiques et aux informations sur la consommation d'aliments spécifiques, permettra de découvrir des liens entre des produits/entreprises et des cas humains jusqu'alors inconnus. Il deviendra sans doute moins probable pour les entreprises de ne jamais être associées à des cas humains. Il convient de noter que, même dans un environnement de production propre, la présence (sporadique) d'un agent pathogène ne peut être totalement exclue. Il est également possible que les produits conformes soient responsables d'une infection humaine, par exemple en raison d'une mauvaise pratique du consommateur, notamment le non-respect des instructions de conservation et d'utilisation indiquées sur l'emballage, et/ou de son statut immunitaire affaibli. À ce titre, les



informations sur les bonnes pratiques pour manipuler et stocker les aliments en toute sécurité sont un prérequis pour les autorités de santé publique, les entreprises alimentaires et les autres organisations de professionnels de la santé en contact avec le grand public ou des groupes cibles sensibles définis. En outre, en cas de rappel ou d'enquête des foyers épidémiques, une bonne communication (de crise) et une réaction rapide pour corriger le problème seront essentielles.

La formation et l'éducation sont également des aspects importants qui doivent être abordés afin de s'assurer que les exploitants du secteur alimentaire sont suffisamment conscients des possibilités et des conséquences de la mise en œuvre du WGS.

Une bonne communication avec le grand public est également essentielle. Le risque zéro n'existe pas en matière de sécurité bactérienne des produits alimentaires. Il est nécessaire d'expliquer que tous les facteurs contribuant aux maladies d'origine alimentaire chez l'homme ne relèvent pas exclusivement de la responsabilité des producteurs de denrées alimentaires, mais aussi que la présence occasionnelle (faible) d'agents pathogènes dans la chaîne d'approvisionnement agroalimentaire ne peut être évitée, en particulier pour les denrées alimentaires crues ou peu transformées. Les éléments relatifs à la capacité immunitaire et/ou à la médication du consommateur, le moment (et la manière) de consommer et la possibilité d'une mauvaise pratique de la part du consommateur doivent être envisagés dans l'évaluation, à partir du moment où une denrée alimentaire devient dangereuse pour la consommation.

#### **Terme de référence 5 : La validation de la méthodologie de WGS : importance, état actuel et évolutions attendues**

Au niveau international, les directives visant à assurer l'interopérabilité des données et des bases de données font l'objet d'un consensus croissant avec la norme ISO (ISO/DIS 23418 : Microbiologie de la chaîne alimentaire — Séquençage de génome entier pour le typage et la caractérisation génomique des bactéries d'origine alimentaire — Exigences générales et recommandations) comme norme générale pour la qualité du WGS. Des efforts croissants sont également déployés à l'échelon européen avec les EURL pour élaborer le système de validation de la méthodologie WGS. D'après les informations obtenues auprès du Laboratoire européen de référence pour *E. coli* (Stefano Morabito, point focal national de l'ECDC en Italie, communication personnelle, Février 2021), l'accréditation du flux de travail de WGS n'est pas encore réalisée. La norme ISO 23418 peut servir de guide pour la validation de la partie « humide » du flux de travail, en traitant les paramètres de qualité du séquençage et leurs influences sur les applications en aval. En ce qui concerne la partie « sèche », on ne s'attend pas à ce que des directives spécifiques pour la normalisation du processus soient bientôt disponibles. La validation de ce processus reposera sur les normes classiques de la série ISO 16140. Pour valider le flux de travail bioinformatique, il existe des documents qui sont produits par le groupe de travail inter-EURL en WGS, établi par la Commission européenne. Ces documents ont pour but de servir de guide dans les différents segments du flux de travail du WGS et certains sont en cours de préparation pour guider l'évaluation comparative du logiciel, par exemple. Ces documents seront publiés prochainement sur les sites web des EURL et peuvent être consultés à l'adresse [https://www.iss.it/e.-coli-genomics/-/asset\\_publisher/](https://www.iss.it/e.-coli-genomics/-/asset_publisher/). De même, des groupes de recherche développent activement des stratégies de validation des flux de travail de WGS. La validation du flux de travail bioinformatique pour la caractérisation des isolats d'*E. coli* producteurs de shigatoxines a été rapportée avec pour objectif

une utilisation de routine par les laboratoires opérant dans le cadre d'un système de qualité (Bogaerts *et al.*, 2021).

Une enquête menée au début de l'année 2021 auprès de certains LNR de nos pays voisins a montré que de nombreux LNR effectuent des analyses de WGS pour les enquêtes sur les foyers de toxi-infections alimentaires. Malgré leur contribution au sein des groupes de travail et des tests de compétence internationaux, les analyses de WGS sont rarement accréditées. Certains LNR ont indiqué que des études de validation basées sur la norme ISO 16140 sont prévues pour des analyses de WGS spécifiques, telles que le sérotypage de *Salmonella*. Le LNR autrichien pour les STEC et *Listeria* dispose d'une méthode de WGS entièrement validée pour la caractérisation de toutes les souches de STEC et de *Listeria monocytogenes* isolées au cours des programmes de contrôle officiels. Dans des laboratoires agroalimentaires de première ligne, l'intérêt pour l'introduction de cette nouvelle technologie est grand, mais l'accréditation n'est pas requise pour le moment et cela n'est pas non plus demandé dans les législations nationales spécifiques. Néanmoins, les méthodes sont validées en interne.

#### **Terme de référence 6 : Exigences - sur le plan technique et organisationnel - pour partager des données de WGS dans le contexte de la sécurité alimentaire**

L'approche « *One Health* » doit être poursuivie. À cette fin, les données de WGS pour différents types d'isolats (humains, alimentaires, animaux et environnementaux) devraient être partagées. Le partage est possible aux niveaux national, européen et international. Idéalement, les données provenant de différentes sources pourraient être collectées de manière centralisée. Les données peuvent provenir d'institutions gouvernementales (contrôles officiels,...), de laboratoires de référence clinique et d'acteurs privés de la chaîne agro-alimentaire.

La mise en place d'une base de données centrale ou d'un autre système d'échange de données (interaction entre différentes bases de données) est importante pour les enquêtes sur les foyers et pour améliorer la gouvernance de la sécurité alimentaire microbiologique. Des accords doivent être conclus sur les (parties des) données qui seront partagées et sur la manière dont elles peuvent être utilisées. La question de la propriété des données doit également être abordée. Un accord doit être conclu sur les informations minimales des métadonnées à inclure dans la base de données. Les métadonnées connexes devraient être rendues aussi uniformes que possible. Il convient de noter que les méthodes et les pipelines d'analyse des données de WGS sont encore en constante évolution et amélioration. Il n'est donc pas possible d'identifier une méthode et un pipeline « optimaux » à utiliser pour le WGS.

Le partage des données de WGS peut être effectué en centralisant les données au niveau national, au niveau belge ou directement à l'échelle internationale, au niveau européen.

- Actuellement, au niveau national en Belgique, il n'y a pas d'échange régulier de données entre la base de données contenant les isolats humains et celle contenant les isolats agroalimentaires (qui ne contient en fait qu'un nombre limité d'isolats). Actuellement, les données de WGS belges pour les isolats humains cliniques sont stockées localement, dans les bases de données des laboratoires, et partagées sur base volontaire dans les bases de données publiques telles qu'Enterobase, NCBI et ENA. Les données de WGS disponibles pour le secteur agroalimentaire en Belgique sont en fait

limitées et stockées localement par les laboratoires qui effectuent les analyses. Tant pour les données cliniques humaines que pour les données agroalimentaires, de nouvelles infrastructures devront être mises en place au niveau belge. Cette nouvelle infrastructure devra être idéalement conçue comme une base de données commune (humaine et agroalimentaire) ou au moins comme deux bases de données pouvant communiquer et permettant l'accès à des données communes. Pour réaliser cette approche, une organisation ou un consortium d'organisations devra être établi au niveau national et être chargé du développement et de la maintenance de cette nouvelle infrastructure. Des règles claires sur la propriété des données devront être convenues pour garantir une participation à l'échelle nationale.

Dans le cas où un système de partage de données au niveau national ne peut être développé, l'échange peut se faire exclusivement au niveau européen. Le principal inconvénient de cette approche sera probablement le nombre limité d'utilisateurs reconnus (LNR et CNR) pouvant accéder à ces bases de données. Lorsqu'une infrastructure belge sera mise en place, l'échange de données des LNR (données de contrôle officiel) au niveau européen sera complémentaire. Au niveau européen, l'EFSA et l'ECDC ont reçu un mandat conjoint de la Commission européenne pour développer une base de données de WGS commune. L'ECDC a déjà développé la base de données TESSy pour les isolats zoonotiques, dans laquelle les centres nationaux de référence (CNR) peuvent déjà partager leurs données de WGS d'isolats humains cliniques. D'ici juin 2022, la base de données commune sera opérationnelle et permettra aux États membres de soumettre des données soit à la base de données WGS de l'EFSA, soit à la base de données TESSy de l'ECDC. Les deux bases de données pourront communiquer et seront disponibles pour la consultation des données.

## 6. Incertitudes

En ce qui concerne cet avis, les incertitudes les plus importantes sont les suivantes :

1. L'évolution technologique liée à la détermination du WGS des isolats bactériens qui pourrait créer de nouvelles opportunités pour l'acquisition et l'analyse des données mais aussi de nouveaux défis pour la comparaison des données, l'interopérabilité et la validation des résultats du WGS.
2. L'incertitude demeure quant à l'évolution du partage des bases de données, et ce aux niveaux national, européen et mondial.
3. À l'heure actuelle, il est difficile d'estimer quand et dans quelle mesure les exploitants du secteur alimentaire adopteront le WGS dans leur système d'autocontrôle et comment ils seront disposés à partager des données, avec ou sans anonymisation de l'information et ceci en relation avec la transparence tout au long de la chaîne agroalimentaire.
4. Le WGS ne recueille que des informations sur la séquence d'ADN, qui, en tant que telle, ne renseigne pas sur l'expression phénotypique de l'information génétique. L'interprétation de ces informations, par exemple pour la prédiction du sérotype, la virulence, l'expression des toxines ou de la RAM, dépend des informations disponibles dans les bases de données. Même lorsqu'une correspondance est trouvée avec des gènes dans les bases de données, l'incertitude demeure quant au degré d'expression et à la pertinence biologique.
5. L'interprétation de la parenté des souches dans les enquêtes sur les foyers doit être effectuée avec beaucoup de précaution car il existe une grande incertitude quant à la quantité de

différences génétiques nécessaires pour considérer deux souches comme différentes. Il n'est pas possible de définir un seuil précis pour le nombre de différences génétiques (par exemple, PNU) entre des souches provenant d'une source commune. En tant que telles, les données dérivées du WGS doivent toujours être associées à des métadonnées.

## 7. Conclusion

Dans cet avis, le Comité scientifique a situé l'utilisation du WGS pour la détection des foyers de toxoinfection alimentaires et l'évaluation des risques bactériens. Le Comité scientifique a également réfléchi à la mise en œuvre du WGS dans le contexte belge. À l'avenir, le WGS deviendra la méthode privilégiée pour les enquêtes sur la sécurité alimentaire en matière de risque bactérien, en raison de son pouvoir discriminatoire élevé et de la disparition au niveau international de diverses méthodes de typage plus anciennes. Bien que les méthodes WGS et les pipelines d'analyse des données soient encore en constante évolution et amélioration, le WGS est prêt à être utilisé dans les enquêtes épidémiologiques de routine et les activités de surveillance. Le Comité scientifique formule plusieurs recommandations concernant la mise en œuvre du WGS dans le contexte belge. Pour faciliter la transition vers le WGS pour l'analyse des isolats alimentaires, y compris la surveillance de la RAM, une période de transition peut être mise en place. Cela laisse aux laboratoires le temps d'acquérir de l'expérience et de préparer les infrastructures nécessaires. Le Comité scientifique conseille à l'AFSCA de passer (progressivement) au WGS pour l'analyse des isolats alimentaires.

Cependant, en dépit des avantages du WGS, certaines limites doivent encore être prises en compte pour une mise en œuvre systématique et uniforme. Des efforts doivent être faits pour valider la méthodologie de WGS et pour faciliter le partage des données. Dans les enquêtes des foyers épidémiques, il est recommandé que les résultats du WGS relatifs à la comparaison des souches soient interprétés par une équipe multidisciplinaire (microbiologistes, biologistes moléculaires, bioinformaticiens, épidémiologistes) disposant d'une expertise suffisante. Il est également recommandé que, lors du WGS pour le sous-typage des souches dans le cadre d'une enquête des foyers épidémiques, des méthodes de WGS et des outils bioinformatiques validés ou reconnus au niveau international soient utilisés et interprétés en fonction de la clonalité de l'agent pathogène considéré. En outre, les preuves épidémiologiques et les métadonnées sur les souches doivent être prises en compte. Ces métadonnées comprennent des caractéristiques telles que les données de géolocalisation, la source d'isolement, la date de collecte, l'organisation effectuant la collecte, les noms des échantillons et des souches. Il est recommandé d'être vigilant quant à l'interprétation et la communication correctes des responsabilités des différents acteurs (autorité compétente, ESA, consommateurs) en cas de foyers. À cet égard, il est important de faire savoir que le risque zéro en matière de sécurité alimentaire bactérienne n'existe pas.

## 8. Recommandations

Le Comité Scientifique formule les recommandations suivantes :

- Il est recommandé de faire la transition vers le WGS pour l'analyse des isolats liés à l'alimentation en Belgique, dans un avenir (proche).

- a. Comme les anciennes méthodes de typage sont en train de disparaître au niveau international, le WGS deviendra la méthode de choix pour le typage des souches (y compris pour *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* et *E. coli* producteurs de shigatoxines) pour la surveillance nationale, l'attribution des sources et l'enquête des foyers épidémiques. Les données WGS sont également intéressantes pour d'autres agents pathogènes d'origine alimentaire. Une période de transition peut être mise en place, afin que les laboratoires puissent investir dans les infrastructures appropriées, acquérir l'expertise technique nécessaire, mettre en place un flux standardisé pour la mise en œuvre de la méthode WGS qui puisse être validé et acquérir de l'expérience.
  - b. Étant donné que les données WGS-RAM peuvent être obtenues à partir des mêmes données de WGS que celles utilisées pour le typage, l'attribution de la source et l'enquête des foyers épidémiques, et qu'elles peuvent compléter les données phénotypiques par des informations supplémentaires liées aux marqueurs génétiques et être examinées rétrospectivement, il est recommandé, pour la surveillance de la RAM, d'extraire des données à partir de celles du WGS recueillies à d'autres fins. Étant donné que cette méthode a récemment été acceptée comme méthode alternative pour la surveillance spécifique des *E. coli* et *Salmonella* producteurs de BLSE ou d'AmpC ou de carbapénémase et que l'EuRL-AR a élaboré un protocole technique à suivre, on peut s'attendre à ce que la transition vers le WGS-RAM se poursuive au niveau de l'UE.
- Le partage des données de WGS peut être effectué en centralisant les données au niveau national, au niveau belge ou directement au niveau international, au niveau européen. Tant pour les données cliniques humaines que pour les données agroalimentaires, une nouvelle infrastructure devra être mise en place au niveau belge. Cette nouvelle infrastructure sera idéalement conçue comme une base de données commune ou au moins comme deux bases de données pouvant communiquer afin que les données communes puissent être analysées. D'ici juin 2022, la base de données commune européenne sera opérationnelle et permettra la communication entre la base de données de WGS de l'EFSA (isolats provenant de produits agroalimentaires) et la base de données Tessy de l'ECDC (isolats cliniques provenant de l'homme). Les isolats belges issus de la chaîne agro-alimentaire et d'origine clinique humaine pourront être soumis aux bases de données respectives.
  - Il est recommandé que les résultats basés sur le WGS concernant la comparaison des souches dans les enquêtes épidémiologiques (par exemple, par l'analyse PNU ou le cgMLST) soient interprétés par une équipe multidisciplinaire (microbiologistes, biologistes moléculaires, bio-informaticiens, épidémiologistes) disposant d'une expertise suffisante. Il n'est pas possible de définir un seuil précis pour le nombre de différences génétiques entre des souches provenant d'une source commune. Les données dérivées du WGS doivent être combinées avec des métadonnées informatives pour l'interprétation épidémiologique. En outre, afin d'établir une définition de cas efficace (par exemple, un seuil) basée sur le WGS, les données de WGS doivent être disponibles pour les souches en circulation. Cela fournira une population qui permettra d'évaluer les clusters de souches responsables de foyers potentiels. Par conséquent, l'utilisation actuelle du WGS lors des enquêtes épidémiologiques devrait être étendue aux programmes de surveillance officiels.

- Afin de prévenir les foyers, notamment celles causées par des agents pathogènes dont on sait qu'ils peuvent persister dans l'environnement de transformation (par exemple, *L. monocytogenes*), il est recommandé d'étudier leur présence dans l'environnement de transformation des aliments et d'assurer le suivi du processus de nettoyage et de désinfection.
- Il est recommandé de poursuivre le processus de normalisation et de validation de la méthodologie de WGS, tant pour la partie « laboratoire humide » que pour la partie « laboratoire sec ». Pour cette technologie également, les méthodes utilisées doivent garantir que les résultats sont conformes aux critères définis dans la norme ISO/DIS 23418 (Microbiologie de la chaîne alimentaire — Séquençage de génome entier pour le typage et la caractérisation génomique des bactéries d'origine alimentaire — Exigences générales et recommandations). Il est recommandé de documenter soigneusement les résultats basés sur le WGS avec des métadonnées suffisantes, afin que, même en cas de mise à jour des bases de données, aucune information ne soit perdue et que la traçabilité de la source des aliments ou de l'exploitant du secteur alimentaire soit maintenue.
- Il est recommandé d'être vigilant quant à l'interprétation et à la communication correctes des responsabilités des différents acteurs (autorité compétente, exploitants du secteur alimentaire (ESA), consommateur) en cas des foyers d'épidémie. À cet égard, il est important de faire savoir que le risque zéro en matière de sécurité bactérienne des aliments n'existe pas.

Pour le Comité scientifique,

Dr. L. Herman (Sé.)  
Présidente  
Le 22/10/2021

## Références

- Alcock, B. P., Raphenya, A. R., Lau, T. T., Tsang, K. K., Bouchard, M., Edalatmand, A., ... & McArthur, A. G. (2020). CARD 2020: antibiotic resistance surveillance with the comprehensive antibiotic resistance database. *Nucleic acids research*, 48(D1), D517-D525.
- Allard, M. W., Strain, E., Melka, D., Bunning, K., Musser, S. M., Brown, E. W., & Timme, R. (2016). Practical value of food pathogen traceability through building a whole-genome sequencing network and database. *Journal of clinical microbiology*, 54(8), 1975-1983.
- Anjum, M. F. (2015). Screening methods for the detection of antimicrobial resistance genes present in bacterial isolates and the microbiota. *Future microbiology*, 10(3), 317-320.
- Ashton, P. M., Nair, S., Peters, T. M., Bale, J. A., Powell, D. G., Painset, A., Tewolde, R., Schaefer, U., Jenkins, C., Dallman, T.J., de Pinna, E.M., & Grant, K. A. (2016). Identification of Salmonella for public health surveillance using whole genome sequencing. *PeerJ*, 4, e1752.
- Autio, T., Lundén, J., Fredriksson-Ahomaa, M., Björkroth, J., Sjöberg, A. M., & Korkeala, H. (2002). Similar *Listeria monocytogenes* pulsotypes detected in several foods originating from different sources. *International journal of food microbiology*, 77(1-2), 83-90.
- Banerji, S., Simon, S., Tille, A., Fruth, A., & Flieger, A. (2020). Author Correction: Genome-based Salmonella serotyping as the new gold standard. *Scientific Reports*, 10(1), 1-12.
- Berbers, B., Saltykova, A., Garcia-Graells, C., Philipp, P., Arella, F., Marchal, K., Winand, R., Vanneste, K., Roosens, N.H.C., & De Keersmaecker, S. C. (2020). Combining short and long read sequencing to characterize antimicrobial resistance genes on plasmids applied to an unauthorized genetically modified *Bacillus*. *Scientific reports*, 10(1), 1-13.
- Bertrand, S., Dierick, K., Heylen, K., De Baere, T., Pochet, B., Robesyn, E., ... & Collard, J. M. (2010). Lessons learned from the management of a national outbreak of Salmonella Ohio linked to pork meat processing and distribution. *Journal of food protection*, 73(3), 529-534.
- Bogaerts, B., Nouws, S., Verhaegen, B., Denayer, S., Van Braekel, J., Winand, R., Fu, Q., Crombé, F., Piérard, D., Marchal, K., Roosens, N. H. C., De Keersmaecker, S. C. J., Vanneste, K. (2021). Validation strategy of a bioinformatics whole genome sequencing workflow for Shiga toxin-producing *Escherichia coli* using a reference collection extensively characterized with conventional methods. *Microbial Genomics*, DOI 10.1099/mgen.0.000531
- Britten, R. J., & Kohne, D. E. (1968). Repeated sequences in DNA. Hundreds of thousands of copies of DNA sequences have been incorporated into the genomes of higher organisms. *Science (New York, N.Y.)*, 161(3841), 529-540.
- Bult, C. J., White, O., Olsen, G. J., Zhou, L., Fleischmann, R. D., Sutton, G. G., Blake, J.A., FitzGerald, L.M., Clayton, R.A., Gocayne, J.D., Kerlavage, A.R., Dougherty, B.A., Tomb, J.F., Adams, M.D., Reich, C.I., Overbeek, R., Kirkness, E.F., Weinstock, K.G., Merrick, J.M., Glodek, A., Scott, J.L., Geoghagen, N.S., & Venter, J. C. (1996). Complete genome sequence of the methanogenic archaeon, *Methanococcus jannaschii*. *Science*, 273(5278), 1058-1073.
- Burall, L. S., Sepehri, S., Srinivasan, D., Grim, C. J., Lacher, D. W., Ferguson, M., ... & Datta, A. R. (2021). Development and Validation of a Quantitative PCR Method for Species Verification and Serogroup Determination of *Listeria monocytogenes* Isolates. *Journal of Food Protection*, 84(2), 333-344.
- Bush, S. J., Foster, D., Eyre, D. W., Clark, E. L., De Maio, N., Shaw, L. P., ... & Walker, A. S. (2020). Genomic diversity affects the accuracy of bacterial single-nucleotide polymorphism-calling pipelines. *GigaScience*, 9(2), gaa007.
- Caetano-Anollés, G., Bassam, B. J., & Gresshoff, P. M. (1991). DNA amplification fingerprinting using very short arbitrary oligonucleotide primers. *Bio/Technology (Nature Publishing Company)*, 9(6), 553-557.

- Castro, H., Jaakkonen, A., Hakakorpi, A., Hakkinen, M., Isidro, J., Korkeala, H., ... & Hallanvuo, S. (2019). Genomic epidemiology and phenotyping reveal on-farm persistence and cold adaptation of raw milk outbreak-associated *Yersinia pseudotuberculosis*. *Frontiers in microbiology*, 10, 1049.
- Castro, H., Jaakkonen, A., Hakkinen, M., Korkeala, H., & Lindström, M. (2018). Occurrence, persistence, and contamination routes of *Listeria monocytogenes* genotypes on three Finnish dairy cattle farms: a longitudinal study. *Applied and environmental microbiology*, 84(4).
- Chang, W. E., Peterson, M. W., Garay, C. D., & Korves, T. (2016). Pathogen metadata platform: software for accessing and analyzing pathogen strain information. *BMC bioinformatics*, 17(1), 1-6.
- Chen, Y., Luo, Y., Carleton, H., Timme, R., Melka, D., Muruvanda, T., Wang, C., Kastanis, G., Katz L. S., Turner L., Fritzing, A., Moore, T., Stones, R., Blankenship, J., Salter, M., Parish, M., Hammack, T. S., Evans, P. S., Tarr, C. L., Allard, M. W., Strain, E. A., & Brown, E. W. (2017). Whole genome and core genome multilocus sequence typing and single nucleotide polymorphism analyses of *Listeria monocytogenes* isolates associated with an outbreak linked to cheese, United States, 2013. *Applied and Environmental Microbiology*, 83(15).
- Chiu, C., & Miller, S. (2016). Next-generation sequencing. *Molecular Microbiology: Diagnostic Principles and Practice*, 68-79.
- Coipan, C. E., Dallman, T. J., Brown, D., Hartman, H., van der Voort, M., van den Berg, R. R., ... & Franz, E. (2020). Concordance of SNP- and allele-based typing workflows in the context of a large-scale international *Salmonella* Enteritidis outbreak investigation. *Microbial Genomics*, 6(3). Retrieved January 15, 2021, from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7200063/>
- Collineau, L., Boerlin, P., Carson, C. A., Chapman, B., Fazil, A., Hetman, B., ... & Smith, B. A. (2019). Integrating whole-genome sequencing data into quantitative risk assessment of foodborne antimicrobial resistance: a review of opportunities and challenges. *Frontiers in microbiology*, 10, 1107.
- Comandatore, F., Corbella, M., Andreoli, G., Scaltriti, E., Aguzzi, M., Gaiarsa, S., ... & Sasser, D. (2017). Genomic characterization helps dissecting an outbreak of listeriosis in Northern Italy. *PLoS currents*, 9.
- Costa, S. S., Guimarães, L. C., Silva, A., Soares, S. C., & Baraúna, R. A. (2020). First Steps in the Analysis of Prokaryotic Pan-Genomes. *Bioinformatics and Biology Insights*, 14, 1177932220938064.
- D'Arrigo, M., Mateo-Vivaracho, L., Guillamón, E., Fernández-León, M. F., Bravo, D., Peirotén, Á., ... & García-Lafuente, A. (2020). Characterization of persistent *Listeria monocytogenes* strains from ten dry-cured ham processing facilities. *Food Microbiology*, 92, 103581.
- De Bruyne, K., Slabbinck, B., Waegeman, W., Vauterin, P., De Baets, B., & Vandamme, P. (2011). Bacterial species identification from MALDI-TOF mass spectra through data analysis and machine learning. *Systematic and Applied Microbiology*, 34(1), 20-29.
- Demaître, N., Van Damme, I., De Zutter, L., Geeraerd, A. H., Rasschaert, G., & De Reu, K. (2020). Occurrence, distribution and diversity of *Listeria monocytogenes* contamination on beef and pig carcasses after slaughter. *Meat Science*, 169, 108177.
- Doumith, M., Buchrieser, C., Glaser, P., Jacquet, C., & Martin, P. (2004). Differentiation of the major *Listeria monocytogenes* serovars by multiplex PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(8), 3819-3822.
- Doumith, M., Godbole, G., Ashton, P., Larkin, L., Dallman, T., Day, M., ... & Woodford, N. (2016). Detection of the plasmid-mediated *mcr-1* gene conferring colistin resistance in human and food isolates of *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* in England and Wales. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71(8), 2300-2305.
- EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ), Ricci, A., Allende, A., Bolton, D., Chemaly, M., Davies, R., ... & Lindqvist, R. (2018). *Listeria monocytogenes* contamination of ready-to-eat foods and the risk for human health in the EU. *EFSA Journal*, 16(1), e05134.



EFSA Panel on Biological Hazards (EFSA BIOHAZ Panel), Koutsoumanis, K., Allende, A., Alvarez-Ordóñez, A., Bolton, D., Bover-Cid, S., ... & Herman, L. (2019). Whole genome sequencing and metagenomics for outbreak investigation, source attribution and risk assessment of food-borne microorganisms. *EFSA Journal*, 17(12), e05898.

EFSA BIOHAZ Panel, Koutsoumanis, K., Allende, A., Alvarez-Ordóñez, A., Bover-Cid, S., Chemaly, M., ... & Bolton, D. (2020). Pathogenicity assessment of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and the public health risk posed by contamination of food with STEC. *EFSA Journal*, 18(1), e05967.

EFSA Panel on Biological Hazards (EFSA BIOHAZ panel), Koutsoumanis, K., Alvarez-Ordóñez, A., Bolton, D., Bover-Cid, S., Chemaly, M., ... & Allende, A. (2020). The public health risk posed by *Listeria monocytogenes* in frozen fruit and vegetables including herbs, blanched during processing. *EFSA Journal*, 18(4), e06092.

EFSA Panel on EFSA Biological Hazards (EFSA BIOHAZ panel). (2013). Scientific Opinion on the evaluation of molecular typing methods for major food-borne microbiological hazards and their use for attribution modelling, outbreak investigation and scanning surveillance: Part 1 (evaluation of methods and applications). *EFSA Journal*, 11(12), 3502.

Ellington, M. J., Ekelund, O., Aarestrup, F. M., Canton, R., Doumith, M., Giske, C., ... & Woodford, N. (2017). The role of whole genome sequencing in antimicrobial susceptibility testing of bacteria: report from the EUCAST Subcommittee. *Clinical microbiology and infection*, 23(1), 2-22.

Ercolini, D. (2013). High-throughput sequencing and metagenomics: moving forward in the culture-independent analysis of food microbial ecology. *Applied and environmental microbiology*, 79(10), 3148-3155.

Espenhain, L., Riess, M., Müller, L., Colombe, S., Ethelberg, S., Litrup, E., ... & Mörk, M. J. (2019). Cross-border outbreak of *Yersinia enterocolitica* O3 associated with imported fresh spinach, Sweden and Denmark, March 2019. *Eurosurveillance*, 24(24), 1900368.

European Centre for Disease Control (ECDC), European Food Safety Authority (EFSA), Van Walle, I., Guerra, B., Borges, V., André Carriço, J., ... & Rizzi, V. (2019). *EFSA and ECDC technical report on the collection and analysis of whole genome sequencing data from food-borne pathogens and other relevant microorganisms isolated from human, animal, food, feed and food/feed environmental samples in the joint ECDC-EFSA molecular typing database* (Vol. 16, No. 5, p. 1337E).

European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). (2019). Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2018.

European Food Safety Authority (EFSA), & European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). (2018). *Multi-country outbreak of *Listeria monocytogenes* serogroup IV b, multi-locus sequence type 6, infections linked to frozen corn and possibly to other frozen vegetables—first update* (Vol. 15, No. 7, p. 1448E).

European Food Safety Authority (EFSA). (2008). Foodborne antimicrobial resistance as a biological hazard-Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards. *EFSA Journal*, 6(8), 765.

EURL-AR (2021). Protocol for whole genome sequencing and bioinformatic analysis of bacterial isolates related to the EU monitoring of antimicrobial resistance. Retrieved April 1, 2021, from [https://www.eurl-ar.eu/CustomData/Files/Folders/34-wgs/577\\_protocol-for-wgs-v2-1.pdf](https://www.eurl-ar.eu/CustomData/Files/Folders/34-wgs/577_protocol-for-wgs-v2-1.pdf)

Fabre, L., Zhang, J., Guigon, G., Le Hello, S., Guibert, V., Accou-Demartin, M., ... & Weill, F. X. (2012). CRISPR typing and subtyping for improved laboratory surveillance of *Salmonella* infections. *PloS one*, 7(5), e36995.

Fagerlund, A., Langsrud, S., & Mørretrø, T. (2020). In-depth longitudinal study of *Listeria monocytogenes* ST9 isolates from the meat processing industry: resolving diversity and transmission patterns using whole-genome sequencing. *Applied and environmental microbiology*, 86(14).

FAO/WHO Codex Alimentarius Commission. (2007). *Working principles for risk analysis for food safety for application by governments*, 1st ed. Rome: World Health Organization : Food and Agriculture Organization of the United Nations

FAO/WHO Codex Alimentarius Commission. (2015). Codex texts on foodborne antimicrobial resistance.

FAO/WHO Codex Alimentarius Commission. (2016). Statistical aspects of microbiological criteria related to foods: a risk manager's guide.

Fiers, W., Contreras, R., Duerinck, F., Haegeman, G., Iserentant, D., Merregaert, J., Min Jou, W., Molemans, F., Raeymaekers, A., Van den Berghe, A., Volckaert, G., & Ysebaert, M. (1976). Complete nucleotide sequence of bacteriophage MS2 RNA: primary and secondary structure of the replicase gene. *Nature*, 260(5551), 500-507.

Finn, S., Condell, O., McClure, P., Amézquita, A., & Fanning, S. (2013). Mechanisms of survival, responses and sources of Salmonella in low-moisture environments. *Frontiers in microbiology*, 4, 331.

Firth, N., Jensen, S. O., Kwong, S. M., Skurray, R. A., & Ramsay, J. P. (2019). Staphylococcal plasmids, transposable and integrative elements. *Gram-Positive Pathogens*, 499-520.

Fleischmann, R. D., Adams, M. D., White, O., Clayton, R. A., Kirkness, E. F., Kerlavage, A. R., Bult, C.J., Tomb, J.F., Dougherty BA, & Merrick, J. M. (1995). Whole-genome random sequencing and assembly of Haemophilus influenzae Rd. *Science*, 269(5223), 496-512.

Franz, E., Gras, L. M., & Dallman, T. (2016). Significance of whole genome sequencing for surveillance, source attribution and microbial risk assessment of foodborne pathogens. *Current Opinion in Food Science*, 8, 74-79.

Franz E. (2020). Voedselveiligheid vanuit volksgezondheid perspectief [presentation]. First webinar on Food Microbiology (BSFM).

Fritsch, L., Felten, A., Palma, F., Mariet, J. F., Radomski, N., Mistou, M. Y., ... & Guillier, L. (2019). Insights from genome-wide approaches to identify variants associated to phenotypes at pan-genome scale: Application to *L. monocytogenes*' ability to grow in cold conditions. *International journal of food microbiology*, 291, 181-188.

Gangiredla, J., Rand, H., Benisatto, D., Payne, J., Strittmatter, C., Sanders J., Wolfgang, W.J., Libuit, K., Herrick, J.B., Prarat, M., Toro, M., Farrell, T., Strain, E. (2021). GalaxyTrakr: a distributed analysis tool for public health whole genome sequence data accessible to non-bioinformaticians. *BMC Genomics*, 22(1), 1-11.

Garcia-Graells, C., Berbers, B., Verhaegen, B., Vanneste, K., Marchal, K., Roosens, N. H., Botteldoorn, N., & De Keersmaecker, S. C. (2020). First detection of a plasmid located carbapenem resistant blaVIM-1 gene in *E. coli* isolated from meat products at retail in Belgium in 2015. *International journal of food microbiology*, 324, 108624.

Gilchrist, C. A., Turner, S. D., Riley, M. F., Petri, W. A., & Hewlett, E. L. (2015). Whole-genome sequencing in outbreak analysis. *Clinical microbiology reviews*, 28(3), 541-563.

Gillis, A., Fayad, N., Makart, L., Bolotin, A., Sorokin, A., Kallassy, M., & Mahillon, J. (2018). Role of plasmid plasticity and mobile genetic elements in the entomopathogen *Bacillus thuringiensis* serovar israelensis. *FEMS microbiology reviews*, 42(6), 829-856.

Gobin, M., Hawker, J., Cleary, P., Inns, T., Gardiner, D., Mikhail, A., ... & Oliver, I. (2018). National outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157: H7 linked to mixed salad leaves, United Kingdom, 2016. *Eurosurveillance*, 23(18), 17-00197.

Goffeau, A., Barrell, B. G., Bussey, H., Davis, R. W., Dujon, B., Feldmann, H., Galibert, F., Hoheisel, J.D., Jacq, C., Johnston, M., Louis, E.J., Mewes, H.W., Murakami, Y., Philippsen, P., Tettelin, H., & Oliver, S. G. (1996). Life with 6000 genes. *Science*, 274(5287), 546-567.

Gonzalez-Escalona, N., & Kase, J. A. (2019). Virulence gene profiles and phylogeny of Shiga toxin-positive *Escherichia coli* strains isolated from FDA regulated foods during 2010-2017. *PLoS One*, 14(4), e0214620.

- Goodwin, S., McPherson, J. D., & McCombie, W. R. (2016). Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. *Nature Reviews Genetics*, 17(6), 333.
- Grimont, Patrick A.D., & Weill, François-Xavier. (2007). *Antigenic Formulae of the Salmonella Serovars* [9th Edition]. WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella.
- Halbedel, S., Prager, R., Fuchs, S., Trost, E., Werner, G., & Flieger, A. (2018). Whole-genome sequencing of recent *Listeria monocytogenes* isolates from Germany reveals population structure and disease clusters. *Journal of clinical microbiology*, 56(6).
- Hasman, H., Hammerum, A. M., Hansen, F., Hendriksen, R. S., Olesen, B., Agersø, Y., ... & Skov, R. L. (2015). Detection of *mcr-1* encoding plasmid-mediated colistin-resistant *Escherichia coli* isolates from human bloodstream infection and imported chicken meat, Denmark 2015. *Eurosurveillance*, 20(49), 30085.
- Henri, C., Félix, B., Guillier, L., Leekitcharoenphon, P., Michelon, D., Mariet, J. F., ... & Roussel, S. (2016). Population genetic structure of *Listeria monocytogenes* strains as determined by pulsed-field gel electrophoresis and multilocus sequence typing. *Applied and environmental microbiology*, 82(18), 5720-5728.
- HGR/SciCom (2016). Gemeenschappelijk advies HGR Nr 9311 en SciCom 21-2016. Aanbevelingen inzake de problematiek van listeriose bij specifieke en kwetsbare doelgroepen. Available online: [http://www.afsca.be/wetenschappelijkcomite/adviezen/2016/\\_documents/Advies21-2016\\_SciCom2016-12Listeriose.pdf](http://www.afsca.be/wetenschappelijkcomite/adviezen/2016/_documents/Advies21-2016_SciCom2016-12Listeriose.pdf)
- Hurley, D., Luque-Sastre, L., Parker, C. T., Huynh, S., Eshwar, A. K., Nguyen, S. V., ... & Fanning, S. (2019). Whole-genome sequencing-based characterization of 100 *Listeria monocytogenes* isolates collected from food processing environments over a four-year period. *MSphere*, 4(4).
- Ingle, D. J., Valcanis, M., Kuzevski, A., Tauschek, M., Inouye, M., Stinear, T., ... & Holt, K. E. (2016). In silico serotyping of *E. coli* from short read data identifies limited novel O-loci but extensive diversity of O: H serotype combinations within and between pathogenic lineages. *Microbial Genomics*, 2(7).
- Inns, T., Flanagan, S., Greig, D. R., Jenkins, C., Seddon, K., Chin, T., & Cartwright, J. (2018). First use of whole-genome sequencing to investigate a cluster of *Yersinia enterocolitica*, Liverpool, United Kingdom, 2017. *Journal of medical microbiology*, 67(12), 1747-1752.
- Inouye, M., Dashnow, H., Raven, L. A., Schultz, M. B., Pope, B. J., Tomita, T., ... & Holt, K. E. (2014). SRST2: rapid genomic surveillance for public health and hospital microbiology labs. *Genome medicine*, 6(11), 1-16.
- ISS. (2020). Science meets Policy” conference: Modern technologies to enable response to crises: NGS to tackle food-borne diseases in the EU. Online conference hosted by ISS, 25/09/2020.
- Ivanek, R., Gröhn, Y. T., Tauer, L. W., & Wiedmann, M. (2005). The cost and benefit of *Listeria monocytogenes* food safety measures. *Critical Reviews in food Science and Nutrition*, 44(7-8), 513-523.
- Jackson, B. R., Tarr, C., Strain, E., Jackson, K. A., Conrad, A., Carleton, H., Katz, L.S., Stroika, S., Gould, L.H., Mody, R.K., Silk, B.J., Beal, J., Chen, Y., Timme, R., Doyle, M., Fields, A., Wise, M., Tillman, G., Defibaugh-Chavez, S., Kucerova, Z., Sabol, A., Roache, K., Trees, E., Simmons, M., Wasilenko, J., Kubota, K., Pouseele, H., Klimke, W., Besser, J., Brown, E., Allard, M., & Gerner-Smidt, P. (2016). Implementation of nationwide real-time whole-genome sequencing to enhance listeriosis outbreak detection and investigation. *Reviews of Infectious Diseases*, 63(3), 380-386.
- Jagadeesan, B., Gerner-Smidt, P., Allard, M. W., Leuillet, S., Winkler, A., Xiao, Y., Chaffron, S., Van Der Vossen, J., Tang, S., Katase, M., McClure, P., Kimura, B., Ching Chai, L., Chapman, J., & Grant, K. (2019). The use of next generation sequencing for improving food safety: translation into practice. *Food microbiology*, 79, 96-115.

- Jenkins, C., Dallman, T. J., & Grant, K. A. (2019). Impact of whole genome sequencing on the investigation of food-borne outbreaks of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* serogroup O157: H7, England, 2013 to 2017. *EuroSurveillance*, 24(4), 1800346.
- Jia, B., Raphenya, A. R., Alcock, B., Waglechner, N., Guo, P., Tsang, K. K., ... & McArthur, A. G. (2016). CARD 2017: expansion and model-centric curation of the comprehensive antibiotic resistance database. *Nucleic acids research*, gkw1004.
- Joensen, K. G., Tetzschner, A. M. M., Iguchi, A., Aarestrup, F. M., & Scheutz, F. (2015). Rapid and Easy In Silico Serotyping of *Escherichia coli* Isolates by Use of Whole-Genome Sequencing Data. *Journal of Clinical Microbiology*, 53(8), 2410–2426.
- Jolley, K. A., & Maiden, M. C. (2010). BIGSdb: Scalable analysis of bacterial genome variation at the population level. *BMC Bioinformatics*, 11(1), 595.
- Jolley, K. A., Bray, J. E., & Maiden, M. C. J. (2018). Open-access bacterial population genomics: BIGSdb software, the PubMLST.org website and their applications. *Wellcome Open Research*, 3, 124.
- Jones, S. J. (1995). An update and lessons from whole-genome sequencing projects. *Current opinion in genetics & development*, 5(3), 349-353.
- Katz, L. S., Griswold, T., Williams-Newkirk, A. J., Wagner, D., Petkau, A., Sieffert, C., ... & Carleton, H. A. (2017). A comparative analysis of the Lyve-SET phylogenomics pipeline for genomic epidemiology of foodborne pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 8, 375.
- Kluytmans–Van Den Bergh, M. F., Huizinga, P., Bonten, M. J., Bos, M., De Bruyne, K., Friedrich, A. W., ... & Kluytmans, J. A. (2016). Presence of mcr-1-positive Enterobacteriaceae in retail chicken meat but not in humans in the Netherlands since 2009. *Eurosurveillance*, 21(9), 30149.
- Kubota, K. A., Wolfgang, W. J., Baker, D. J., Boxrud, D., Turner, L., Trees, E., Carleton, H. A., ... & Gerner-Smidt, P. (2019). PulseNet and the Changing Paradigm of Laboratory-Based Surveillance for Foodborne Diseases. *Public Health Reports (Washington, D.C.: 1974)*, 134(2\_suppl), 22S-28S.
- Kvistholm Jensen, A., Simonsen, J., & Ethelberg, S. (2017). Use of proton pump inhibitors and the risk of listeriosis: a nationwide registry-based case-control study. *Clinical infectious diseases*, 64(7), 845-851.
- Kwong, J. C., Mercoulia, K., Tomita, T., Easton, M., Li, H. Y., Bulach, D. M., ... & Howden, B. P. (2016). Prospective whole-genome sequencing enhances national surveillance of *Listeria monocytogenes*. *Journal of clinical microbiology*, 54(2), 333-342.
- Langridge, G. C., Fookes, M., Connor, T. R., Feltwell, T., Feasey, N., Parsons, B. N., ... & Thomson, N. R. (2015). Patterns of genome evolution that have accompanied host adaptation in *Salmonella*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(3), 863-868.
- Lehmacher, A., Bockemühl, J., & Aleksic, S. (1995). Nationwide outbreak of human salmonellosis in Germany due to contaminated paprika and paprika-powdered potato chips. *Epidemiology & Infection*, 115(3), 501-511.
- Li, Y., & Lin, Y. (2020). Kmer2SNP: Reference-free SNP calling from raw reads based on matching. *BioRxiv*, 2020.05.17.100305.
- Lianou, A., & Koutsoumanis, K. P. (2013). Strain variability of the behavior of foodborne bacterial pathogens: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 167(3), 310-321.
- Lin, A., Nguyen, L., Lee, T., Clotilde, L. M., Kase, J. A., Son, I., ... & Lauzon, C. R. (2011). Rapid O serogroup identification of the ten most clinically relevant STECs by Luminex microbead-based suspension array. *Journal of microbiological methods*, 87(1), 105-110.

Liu, Y. Y., Wang, Y., Walsh, T. R., Yi, L. X., Zhang, R., Spencer, J., ... & Shen, J. (2016). Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *The Lancet infectious diseases*, 16(2), 161-168.

Lopera, J., Frank, A., McCluskey, A., King, S., Fenn, S., Kindig, K., Riojas, M., Sohn, J.-W., Sadural, H., Briana, B., & Wilder, C. (2020). Microbial genome databases: existing challenges and the need for authenticated reference genomes - Application note. American Type Culture Collection (ATCC) (<https://www.lgcstandards-atcc.org/en.aspx>).

Lundén, J. M., Autio, T. J., & Korkeala, H. J. (2002). Transfer of persistent *Listeria monocytogenes* contamination between food-processing plants associated with a dicing machine. *Journal of food protection*, 65(7), 1129-1133.

Lundén, J. M., Autio, T. J., Sjöberg, A. M., & Korkeala, H. J. (2003). Persistent and nonpersistent *Listeria monocytogenes* contamination in meat and poultry processing plants. *Journal of food protection*, 66(11), 2062-2069.

Lyytikäinen, O., Autio, T., Maijala, R., Ruutu, P., Honkanen-Buzalski, T., Miettinen, M., ... & Siitonen, A. (2000). An outbreak of *Listeria monocytogenes* serotype 3a infections from butter in Finland. *The Journal of infectious diseases*, 181(5), 1838-1841.

Maiden, M. C. J., Jansen van Rensburg, M. J., Bray, J. E., Earle, S. G., Ford, S. A., Jolley, K. A., & McCarthy, N. D. (2013). MLST revisited: The gene-by-gene approach to bacterial genomics. *Nature Reviews. Microbiology*, 11(10), 728-736.

Maury, M. M., Tsai, Y. H., Charlier, C., Touchon, M., Chenal-Francisque, V., Leclercq, A., ... & Lecuit, M. (2016). Uncovering *Listeria monocytogenes* hypervirulence by harnessing its biodiversity. *Nature genetics*, 48(3), 308.

Maxam, A., & Gilbert, W. (1980). Sequencing end-labeled DNA with base-specific chemical cleavages, *Methods Enzymol.* 65, 499-560. Singh, HR, Sen, D., Baltimore, D. & Sharp, PA (1986) A nuclear factor that binds to a conserved sequence motif in transcriptional control elements of immunoglobulin genes. *Nature*, 319, 154-158.

McDermott, P. F., Tyson, G. H., Kabera, C., Chen, Y., Li, C., Folster, J. P., ... & Zhao, S. (2016). Whole-genome sequencing for detecting antimicrobial resistance in nontyphoidal *Salmonella*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 60(9), 5515-5520.

Moore, E. R. B. (2010). Microbial systematics and taxonomy: Relevance for a microbial commons. *Research in Microbiology*, 10.

Moura, A., Tourdjman, M., Leclercq, A., Hamelin, E., Laurent, E., Fredriksen, N., ... & Lecuit, M. (2017). Real-time whole-genome sequencing for surveillance of *Listeria monocytogenes*, France. *Emerging infectious diseases*, 23(9), 1462.

Moxon, E. R. (1995). Whole genome sequencing of pathogens: a new era in microbiology. *Trends in microbiology*, 3(9), 335-337.

Mylius, M., Dreesman, J., Pulz, M., Pallasch, G., Beyrer, K., Claußen, K., ... & Mertens, E. (2018). Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O103: H2 outbreak in Germany after school trip to Austria due to raw cow milk, 2017–The important role of international collaboration for outbreak investigations. *International Journal of Medical Microbiology*, 308(5), 539-544.

Nastasijevic, I., Milanov, D., Velebit, B., Djordjevic, V., Swift, C., Painset, A., & Lakicevic, B. (2017). Tracking of *Listeria monocytogenes* in meat establishment using whole genome sequencing as a food safety management tool: a proof of concept. *International Journal of Food Microbiology*, 257, 157-164.

Neoh, H., Tan, X.-E., Sapri, H. F., & Tan, T. L. (2019). Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE): A review of the “gold standard” for bacteria typing and current alternatives. *Infection, Genetics and Evolution*, 74, 103935.

- Nouws, S., Bogaerts, B., Verhaegen, B., Denayer, S., Crombé, F., De Rauw, K., ... & De Keersmaecker, S. C. (2020). The benefits of whole genome sequencing for foodborne outbreak investigation from the perspective of a National Reference Laboratory in a smaller country. *Foods*, 9(8), 1030.
- Orsi, R. H., den Bakker, H. C., & Wiedmann, M. (2011). *Listeria monocytogenes* lineages: genomics, evolution, ecology, and phenotypic characteristics. *International Journal of Medical Microbiology*, 301(2), 79-96.
- Orsi, R. H., den Bakker, H. C., & Wiedmann, M. (2011). *Listeria monocytogenes* lineages: genomics, evolution, ecology, and phenotypic characteristics. *International Journal of Medical Microbiology*, 301(2), 79-96.
- Ortiz, S., López, V., Villatoro, D., López, P., Dávila, J. C., & Martínez-Suarez, J. V. (2010). A 3-year surveillance of the genetic diversity and persistence of *Listeria monocytogenes* in an Iberian pig slaughterhouse and processing plant. *Foodborne pathogens and disease*, 7(10), 1177-1184.
- Pearce, M. E., Alikhan, N.-F., Dallman, T. J., Zhou, Z., Grant, K., & Maiden, M. C. J. (2018). Comparative analysis of core genome MLST and SNP typing within a European *Salmonella* serovar Enteritidis outbreak. *International Journal of Food Microbiology*, 274, 1–11.
- Peccio, A., Autio, T., Korkeala, H., Rosmini, R., & Trevisani, M. (2003). *Listeria monocytogenes* occurrence and characterization in meat-producing plants. *Letters in Applied Microbiology*, 37(3), 234-238.
- Petersen, L. M., Martin, I. W., Moschetti, W. E., Kershaw, C. M., & Tsongalis, G. J. (2019). Third-generation sequencing in the clinical laboratory: exploring the advantages and challenges of nanopore sequencing. *Journal of clinical microbiology*, 58(1).
- Petrillo, M., Fabbri, M., Kagkli, D. M., Querci, M., Van den Eede, G., Alm, E., ... & Angers-Loustau, A. (2021). A roadmap for the generation of benchmarking resources for antimicrobial resistance detection using next generation sequencing. *F1000Research*, 10(80), 80.
- Pietzka, A., Allerberger, F., Murer, A., Lennkh, A., Stöger, A., Cabal Rosel, A., ... & Schmid, D. (2019). Whole genome sequencing based surveillance of *L. monocytogenes* for early detection and investigations of listeriosis outbreaks. *Frontiers in public health*, 7, 139.
- Prencipe, V. A., Rizzi, V., Acciari, V., Iannetti, L., Giovannini, A., Serraino, A., ... & Caporale, V. (2012). *Listeria monocytogenes* prevalence, contamination levels and strains characterization throughout the Parma ham processing chain. *Food Control*, 25(1), 150-158.
- Quainoo, S., Coolen, J. P., van Hijum, S. A., Huynen, M. A., Melchers, W. J., van Schaik, W., & Wertheim, H. F. (2017). Whole-genome sequencing of bacterial pathogens: the future of nosocomial outbreak analysis. *Clinical microbiology reviews*, 30(4), 1015-1063.
- Rumore, J., Tschetter, L., Kearney, A., Kandar, R., McCormick, R., Walker, M., ... & Nadon, C. (2018). Evaluation of whole-genome sequencing for outbreak detection of Verotoxigenic *Escherichia coli* O157: H7 from the Canadian perspective. *BMC genomics*, 19(1), 1-13.
- Ruppitsch, W. (2016). Molecular typing of bacteria for epidemiological surveillance and outbreak investigation / Molekulare Typisierung von Bakterien für die epidemiologische Überwachung und Ausbruchsabklärung. *Die Bodenkultur: Journal of Land Management, Food and Environment*, 67(4), 199–224.
- Salas, M., Blanco, L., Lázaro, J. M., & de Vega, M. (2008). My Favorite Enzyme. The bacteriophage phi29 DNA polymerase. *IUBMB Life*, 60(1), 82-85.
- Saltykova, A., Wuyts, V., Mattheus, W., Bertrand, S., Roosens, N. H., Marchal, K., & De Keersmaecker, S. C. (2018). Comparison of SNP-based subtyping workflows for bacterial isolates using WGS data, applied to *Salmonella enterica* serotype Typhimurium and serotype 1, 4,[5], 12: i:-. *PloS one*, 13(2), e0192504.

- Sanger, F., & Coulson, A. R. (1975). A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. *Journal of molecular biology*, 94(3), 441-448.
- Sanger, F., Nicklen, S., & Coulson, A. R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the national academy of sciences*, 74(12), 5463-5467.
- Schjørring, S., Lassen, S. G., Jensen, T., Moura, A., Kjeldgaard, J. S., Müller, L., ... & Nielsen, E. M. (2017). Cross-border outbreak of listeriosis caused by cold-smoked salmon, revealed by integrated surveillance and whole genome sequencing (WGS), Denmark and France, 2015 to 2017. *Eurosurveillance*, 22(50), 17-00762.
- Schürch, A. C., & van Schaik, W. (2017). Challenges and opportunities for whole-genome sequencing-based surveillance of antibiotic resistance. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1388(1), 108-120.
- Schwartz, D. C., Saffran, W., Welsh, J., Haas, R., Goldenberg, M., & Cantor, C. R. (1983). New Techniques for Purifying Large DNAs and Studying Their Properties and Packaging. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 47, 189-195.
- Seeliger, H. P. R., & Höhne, K. (1979). Chapter II Serotyping of *Listeria monocytogenes* and Related Species. In T. Bergan & J. R. Norris (Eds.), *Methods in Microbiology* (Vol. 13, pp. 31-49). Academic Press. Retrieved November 30, 2020, from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0580951708703726>
- Sheppard, S. K., Jolley, K. A., & Maiden, M. C. J. (2012). A Gene-By-Gene Approach to Bacterial Population Genomics: Whole Genome MLST of *Campylobacter*. *Genes*, 3(2), 261-277.
- Smith, A. M., Tau, N. P., Smouse, S. L., Allam, M., Ismail, A., Ramalwa, N. R., ... & Thomas, J. (2019). Outbreak of *Listeria monocytogenes* in South Africa, 2017-2018: laboratory activities and experiences associated with whole-genome sequencing analysis of isolates. *Foodborne pathogens and disease*, 16(7), 524-530.
- Smith, A. M., Tau, N. P., Ngomane, H. M., Sekwadi, P., Ramalwa, N., Moodley, K., ... & Thomas, J. (2020). Whole-genome sequencing to investigate two concurrent outbreaks of *Salmonella* Enteritidis in South Africa, 2018. *Journal of Medical Microbiology*, 69(11), 1303-1307.
- Stoller, A., Stevens, M. J., Stephan, R., & Guldemann, C. (2019). Characteristics of *Listeria monocytogenes* strains persisting in a meat processing facility over a 4-year period. *Pathogens*, 8(1), 32.
- Taboada, E. N., Graham, M. R., Carriço, J. A., & Van Domselaar, G. (2017). Food Safety in the Age of Next Generation Sequencing, Bioinformatics, and Open Data Access. *Frontiers in Microbiology*, 8. Retrieved January 11, 2021, from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5440521/>
- Tang, S., Orsi, R. H., Luo, H., Ge, C., Zhang, G., Baker, R. C., ... & Wiedmann, M. (2019). Assessment and comparison of molecular subtyping and characterization methods for *Salmonella*. *Frontiers in microbiology*, 10, 1591.
- Timme, R. E., Sanchez Leon, M., & Allard, M. W. (2019). Utilizing the Public GenomeTrakr Database for Foodborne Pathogen Traceback. In A. Bridier (Ed.), *Foodborne Bacterial Pathogens: Methods and Protocols*, Methods in Molecular Biology (pp. 201-212). New York, NY: Springer. Retrieved November 29, 2020, from [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9000-9\\_17](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9000-9_17)
- Timme, R. E., Wolfgang, W. J., Balkey, M., Venkata, S. L. G., Randolph, R., Allard, M., & Strain, E. (2020). Optimizing open data to support one health: Best practices to ensure interoperability of genomic data from bacterial pathogens. *One Health Outlook*, 2(1). Retrieved November 29, 2020, from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7568946/>
- Tompkins, T., Mainville, I., & Arcand, Y. (2011). The impact of meals on a probiotic during transit through a model of the human upper gastrointestinal tract. *Beneficial microbes*, 2(4), 295-303.

- Uelze, L., Borowiak, M., Bönn, M., Brinks, E., Deneke, C., Hankeln, T., Kleta, S., Murr, L., Stingl, K., Szabo, K., Tausch, S.H., Wöhlke, A., & Malorny, B. (2020). German-wide interlaboratory study compares consistency, accuracy and reproducibility of whole-genome short read sequencing. *Frontiers in microbiology*, 11, 2157.
- Van Walle, I., Björkman, J. T., Cormican, M., Dallman, T., Mossong, J., Moura, A., ... & Takkinen, J. (2018). Retrospective validation of whole genome sequencing-enhanced surveillance of listeriosis in Europe, 2010 to 2015. *Eurosurveillance*, 23(33), 1700798.
- Vandamme, P., Pot, B., Gillis, M., de Vos, P., Kersters, K., & Swings, J. (1996). Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiological Reviews*, 60(2), 407–438.
- Vaughn, E. L., Vo, Q. T., Vostok, J., Stiles, T., Lang, A., Brown, C. M., ... & Madoff, L. (2020). Linking Epidemiology and Whole-Genome Sequencing to Investigate Salmonella Outbreak, Massachusetts, USA, 2018. *Emerging infectious diseases*, 26(7), 1538.
- Verghese, B., Lok, M., Wen, J., Alessandria, V., Chen, Y., Kathariou, S., & Knabel, S. (2011). comK prophage junction fragments as markers for *Listeria monocytogenes* genotypes unique to individual meat and poultry processing plants and a model for rapid niche-specific adaptation, biofilm formation, and persistence. *Applied and environmental microbiology*, 77(10), 3279-3292.
- Versalovic, J., Schneider, M., Bruijn, F. J. D., & Lupski, J. R. (1994). Genomic fingerprinting of bacteria using repetitive sequence-based polymerase chain reaction. *Methods in Molecular and Cellular Biology*, 5(1), 25–40.
- Vilne, B., Meistere, I., Grantiņa-Ieviņa, L., & Ķibilds, J. (2019). Machine learning approaches for epidemiological investigations of food-borne disease outbreaks. *Frontiers in microbiology*, 10, 1722.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Lee, T. V. D., Hornes, M., ... & Zabeau, M. (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic acids research*, 23(21), 4407-4414.
- Wang, C., Feng, Y., Liu, L., Wei, L., Kang, M., & Zong, Z. (2020). Identification of novel mobile colistin resistance gene mcr-10. *Emerging microbes & infections*, 9(1), 508-516.
- Williamson, D. A., Baines, S. L., Carter, G. P., da Silva, A. G., Ren, X., Sherwood, J., ... & Howden, B. P. (2016). Genomic insights into a sustained national outbreak of *Yersinia pseudotuberculosis*. *Genome biology and evolution*, 8(12), 3806-3814.
- Wilson, D., Dolan, G., Aird, H., Sorrell, S., Dallman, T. J., Jenkins, C., ... & Gorton, R. (2018). Farm-to-fork investigation of an outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157. *Microbial genomics*, 4(3).
- World Health Organization (WHO). (2014). *Antimicrobial resistance: global report on surveillance*. World Health Organization.
- World Health Organization (WHO). (2018). *Whole genome sequencing for foodborne disease surveillance: landscape paper*.
- Wuyts, V., Denayer, S., Roosens, N. H., Mattheus, W., Bertrand, S., Marchal, K., ... & De Keersmaecker, S. C. (2015). Whole genome sequence analysis of *Salmonella* Enteritidis PT4 outbreaks from a national reference laboratory's viewpoint. *PLoS currents*, 7.
- Xavier, B. B., Lammens, C., Ruhai, R., Kumar-Singh, S., Butaye, P., Goossens, H., & Malhotra-Kumar, S. (2016). Identification of a novel plasmid-mediated colistin-resistance gene, mcr-2, in *Escherichia coli*, Belgium, June 2016. *Eurosurveillance*, 21(27), 30280.
- Yoshida, C. E., Kruczkiewicz, P., Laing, C. R., Lingohr, E. J., Gannon, V. P. J., Nash, J. H. E., & Taboada, E. N. (2016). The *Salmonella* In Silico Typing Resource (SISTR): An Open Web-Accessible Tool for Rapidly Typing and Subtyping Draft *Salmonella* Genome Assemblies. *PLoS One*, 11(1), e0147101.



Yousfi, K., Usongo, V., Berry, C., Khan, R. H., Tremblay, D. M., Moineau, S., ... & Bekal, S. (2020). Source Tracking Based on Core Genome SNV and CRISPR Typing of *Salmonella enterica* Serovar Heidelberg Isolates Involved in Foodborne Outbreaks in Québec, 2012. *Frontiers in microbiology*, 11, 1317.

Zankari, E., Hasman, H., Cosentino, S., Vestergaard, M., Rasmussen, S., Lund, O., ... & Larsen, M. V. (2012). Identification of acquired antimicrobial resistance genes. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 67(11), 2640-2644.

Zhang, S., Yin, Y., Jones, M. B., Zhang, Z., Kaiser, B. L. D., Dinsmore, B. A., ... & Deng, X. (2015). *Salmonella* serotype determination utilizing high-throughput genome sequencing data. *Journal of clinical microbiology*, 53(5), 1685-1692.

Zhao, S., Tyson, G. H., Chen, Y., Li, C., Mukherjee, S., Young, S., ... & McDermott, P. F. (2016). Whole-genome sequencing analysis accurately predicts antimicrobial resistance phenotypes in *Campylobacter* spp. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(2), 459-466.

## Présentation du Comité scientifique institué auprès l'AFSCA

Le Comité scientifique (SciCom) est un organe consultatif institué auprès l'Agence fédérale belge pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire (AFSCA) qui rend des **avis scientifiques indépendants** en ce qui concerne l'évaluation et la gestion des risques dans la chaîne alimentaire, et ce sur demande de l'administrateur délégué de l'AFSCA, du ministre compétent pour la sécurité alimentaire ou de sa propre initiative. Le Comité scientifique est soutenu administrativement et scientifiquement par la Direction d'encadrement pour l'évaluation des risques de l'Agence alimentaire.

Le Comité scientifique est composé de 22 membres, nommés par arrêté royal sur base de leur expertise scientifique dans les domaines liés à la sécurité de la chaîne alimentaire. Lors de la préparation d'un avis, le Comité scientifique peut faire appel à des experts externes qui ne sont pas membres du Comité scientifique. Tout comme les membres du Comité scientifique, ceux-ci doivent être en mesure de travailler indépendamment et impartialement. Afin de garantir l'indépendance des avis, les conflits d'intérêts potentiels sont gérés en toute transparence.

Les avis sont basés sur une évaluation scientifique de la question. Ils expriment le point de vue du Comité scientifique qui est pris en consensus sur la base de l'évaluation des risques et des connaissances existantes sur le sujet.

Les avis du Comité scientifique peuvent contenir des **recommandations** pour la politique de contrôle de la chaîne alimentaire ou pour les parties concernées. Le suivi des recommandations pour la politique est la responsabilité des gestionnaires de risques.

Les questions relatives à un avis peuvent être adressées au secrétariat du Comité scientifique : [Secretariat.SciCom@afsca.be](mailto:Secretariat.SciCom@afsca.be)

## Membres du Comité scientifique

Le Comité scientifique est composé des membres suivants :

A. Clinquart, P. Delahaut, B. De Meulenaer, N. De Regge, J. Dewulf, L. De Zutter, A. Geeraerd, N. Gillard, L. Herman, K. Houf, N. Korsak, L. Maes, M. Mori, A. Rajkovic, N. Roosens, C. Saegerman, M.-L. Scippo, P. Spanoghe, K. Van Hoorde, Y. Vandenplas, F. Verheggen, S. Vlaeminck

## Conflit d'intérêts

Aucun conflit d'intérêts n'a été relevé.

## Remerciements

Le Comité scientifique remercie la Direction d'encadrement pour l'évaluation des risques et les membres du groupe de travail pour la préparation du projet d'avis. Le Comité scientifique souhaite également remercier M. Uyttendaele (UGent) pour le peer review de l'avis et A. Clinquart et A. Rajkovic pour la lecture approfondie de l'avis.

## Composition du groupe de travail

Le groupe de travail était composé de :

Membres du Comité scientifique :	L. Herman (rapporteur), L. De Zutter, A. Geeraerd, M. Mori, N. Roosens <sup>3</sup> , K. Van Hoorde
Experts externes:	N. Botteldoorn (DGZ), V. Delcenserie (ULiège), J. Mahillon (UCLouvain) <sup>4</sup> , B. Verhaegen (Sciensano), M. Uyttendaele (Ugent) <sup>5</sup>
Gestionnaire du dossier:	K. Feys

Les activités du groupe de travail ont été suivies par les membres de l'administration suivants (comme observateurs) : V. Cantaert (FASFC) et B. Pochet (FASFC).

## Consultation publique

Afin d'augmenter la transparence, mais sans compromettre la position indépendante du Comité scientifique, les membres du Comité consultatif ont été invités à communiquer leurs commentaires sur l'avis. Les commentaires reçus et les réponses sur ces commentaires sont repris en annexe de l'avis (Annexe 3).

## Cadre juridique

Loi du 4 février 2000 relative à la création de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire, notamment l'article 8 ;

Arrêté royal du 19 mai 2000 relatif à la composition et au fonctionnement du Comité scientifique institué auprès de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire ;

Règlement d'ordre intérieur visé à l'article 3 de l'arrêté royal du 19 mai 2000 relatif à la composition et au fonctionnement du Comité scientifique institué auprès de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire, approuvé par le Ministre le 8 juin 2017.

## Disclaimer

Le Comité scientifique conserve à tout moment le droit de modifier cet avis si de nouvelles informations et données deviennent disponibles après la publication de cette version.

---

<sup>3</sup> Membre du groupe de travail à partir de janvier 2021

<sup>4</sup> Membre du Comité Scientifique jusqu'en janvier 2021

<sup>5</sup> Membre du groupe de travail jusqu'en octobre 2020