

Význam celogenomového sekvenování pro molekulární charakteristiku salmonel a Shiga toxin-produkujících Escherichia coli – WP3

101113387 — HERA2CZ — EU4H-2022-DGA-MS-IBA-1

Ondřej Daniel, Tereza Stárková, Monika Havlíčková, Martina Bielaszewska
Oddělení stafylokokových a alimentárních bakteriálních infekcí, Státní zdravotní ústav, Praha
ondrej.daniel@szu.cz



ÚVOD

Sekvenování celého genomu (**Whole Genome Sequencing; WGS**) je považováno za „zlatý standard“ v rámci molekulární surveillance a pro detekci a šetření suspektních epidemických klastrů u alimentárních patogenů [1]. V rámci projektu „Genomická surveillance vybraných infekčních nemocí v České republice“ (HERA2CZ) jsme prováděli WGS u *Salmonella* sp. a Shiga toxin-produkujících *Escherichia coli* (STEC). Výsledky získané WGS byly následně komunikovány v rámci online portálu EpiPulse [2] za účelem monitorování, odhalování vnitrostátních a přeshraničních hrozeb, hodnocení rizik a reagování na probíhající epidemie.

MATERÁL A METODY

- Proces izolace DNA, přípravy knihoven a sekvenace formou krátkého čtení je detailně popsán v publikaci [3].
- Analýza získaných dat probíhala:
 - za použití analytické platformy EnteroBase [4] u kmenů *Salmonella* sp., *vyhodnocovací schéma multilokusová sekvenční typizace „core genomu“ (cgMLST) o 3002 lokusech*
 - za použití softwaru Ridom SeqSphere+ [5] u kmenů STEC, *vyhodnocovací schéma cgMLST o 2513 lokusech*
- V případě identifikace geneticky podobných kmenů:
 - pro *Salmonella* sp. byly za geneticky podobné považovány kmeny, které se nelišily o více než 5 alel od referenčního kmene daného suspektního epidemického klastru
 - pro STEC byly za geneticky podobné považovány kmeny, které se nelišily o více než 7 alel od referenčního kmene daného suspektního epidemického klastru
 - probíhala následná komunikace v rámci online portálu EpiPulse.

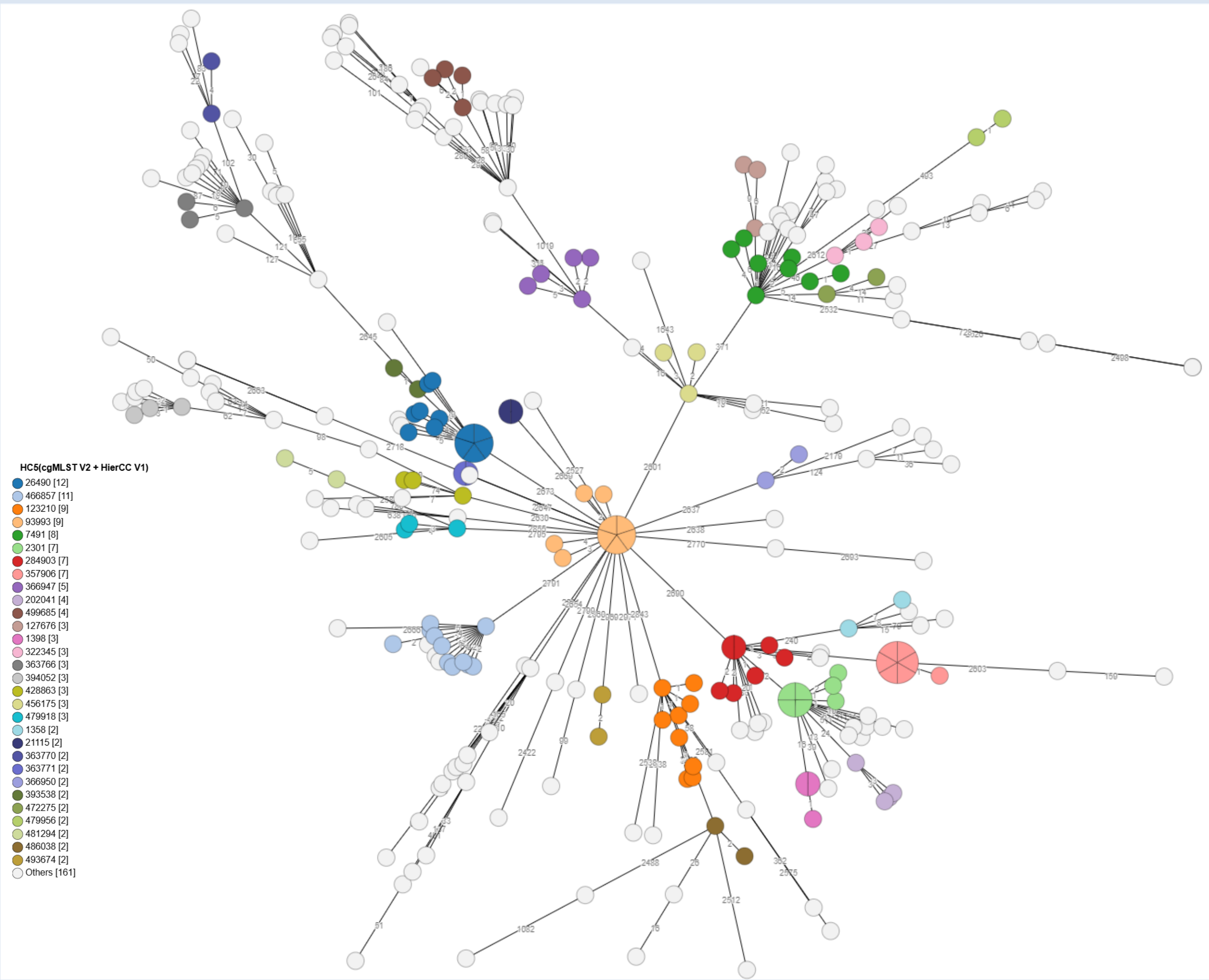
VÝSLEDKY

<i>Salmonella</i> sp.	06/2022 - 12/2024
Počet epidemických klastrů v systému EpiPulse	110
Počet epidemických klastrů v systému EpiPulse vykazující geneticky podobné kmeny z ČR	8
Počet epidemických klastrů v systému EpiPulse vykazující geneticky podobné kmeny z ČR s prokázaným vehikulem/zdrojem	2

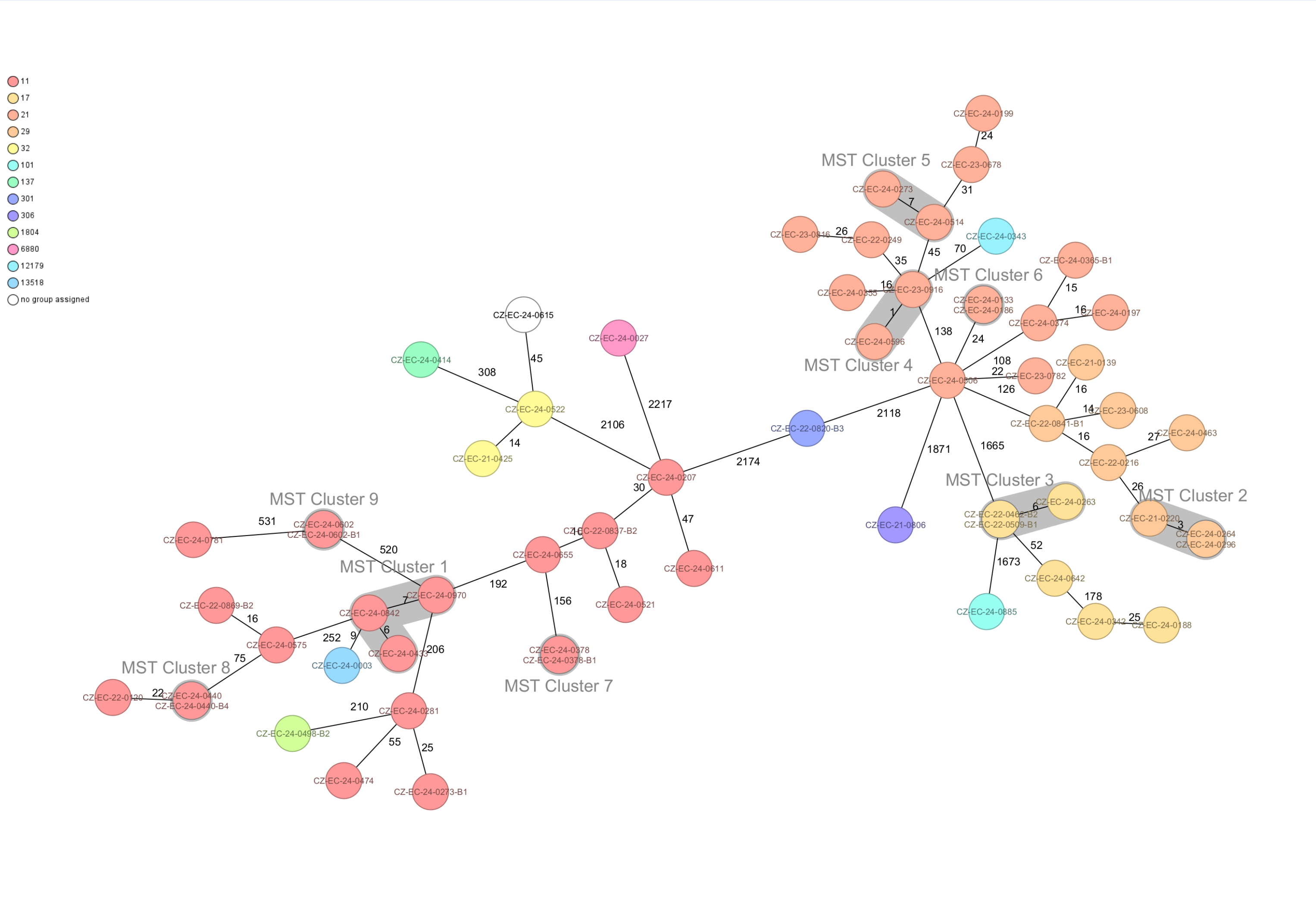
Tab 1: Přehled ilustrující aktivitu pro *Salmonella* sp. v rámci systému EpiPulse v období 06/2022 – 12/2024.

STEC	06/2022 - 12/2024
Počet epidemických klastrů v systému EpiPulse	36
Počet epidemických klastrů v systému EpiPulse vykazující geneticky podobné kmeny z ČR	0
Počet epidemických klastrů v systému EpiPulse vykazující geneticky podobné kmeny z ČR s prokázaným vehikulem/zdrojem	0

Tab 2: Přehled ilustrující aktivitu pro Shiga toxin-produkující *E. coli* v rámci systému EpiPulse v období 06/2022 – 12/2024.



Obr 1: Minimální kostra grafu (MST) zobrazující výsledky cgMLST analýzy sekvenovaných kmenů (1 kmen = 1 kruh) *Salmonella* sp. z let 2022-2024 (n=290). Alelické rozdíly mezi jednotlivými kmeny jsou indikovány čísly na spojnicích mezi kmeny. Geneticky podobné kmeny tvořící klastry na hladině HC-5 (klastry zahrnují všechny kmeny, jejichž vazby nejsou vzdáleny více než 5 alel) jsou vyznačeny barevně (viz legenda vlevo).



Obr 2: Minimální kostra grafu (MST) zobrazující výsledky cgMLST analýzy sekvenovaných kmenů (1 kmen = 1 kruh) STEC v letech 2021-2024 (n=62). Alelické rozdíly mezi jednotlivými kmeny jsou indikovány čísly na spojnicích mezi kmeny. Barevné označení jednotlivých kmenů odpovídá sekvenčním typům na základě 7 genového MLST schématu dle Achtmana (viz legenda vlevo). Geneticky podobné kmeny tvořící klastry jsou vyznačeny šedým podbarvením.

- Identifikováno celkem 29 klastrů *Salmonella* sp.
 - Identifikovány kmeny spadající do 2 mezinárodních klastrů s prokázaným vehikulem
 - rukola, baby-špenát – *S. Umbilo* (Obr 1)
 - rajčata – *S. Strathcona* (Obr 1)
- 42,7 % (124/290) analyzovaných kmenů je součástí některého z klastrů
- 15 námi identifikovaných klastrů vykazovalo mezinárodní přesah
- Identifikováno celkem 9 klastrů STEC
 - Klastry 1 – 6 jsou tvořeny kmeny pocházejícími z různých let a od různých pacientů
 - Klastry 7 – 9 jsou tvořeny opakovaným sekvenováním týchž kmenů od stejných pacientů (sloužily jako kontrola správnosti analýzy)
- 17,7 % (11/62) analyzovaných kmenů je součástí některého z klastrů

ZÁVĚRY

- V případě *Salmonella* sp. byly identifikovány kmeny geneticky příbuzné s epidemickými klastry v rámci systému EpiPulse.
- V případě epidemických klastrů s prokázaným vehikulem u *Salmonella* sp. se jednalo o potraviny rostlinného původu.
- V případě STEC nebyly identifikovány žádné kmeny geneticky příbuzné s epidemickými klastry v rámci systému EpiPulse, což může naznačovat geografickou specifitu STEC.

LITERATURA

- Gerner-Smidt, Peter et al. "Whole Genome Sequencing: Bridging One-Health Surveillance of Foodborne Diseases." *Frontiers in public health* vol. 7 172. 27 Jun. 2019
- <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/epipulse-european-surveillance-portal-infectious-diseases>
- Schlosserová, Klára et al. "Enteraggregative Escherichia coli: Frequent, yet underdiagnosed pathotype among E. coli O111 strains isolated from children with gastrointestinal disorders in the Czech Republic." *International journal of medical microbiology : IJMM* vol. 316 (2024)
- Zhou, Zhemín et al. "The EnterBase user's guide, with case studies on Salmonella transmissions, Yersinia pestis phylogeny, and Escherichia core genomic diversity." *Genome research* vol. 30,1 (2020): 138-152
- Jünemann, Sebastian et al. "Updating benchmark sequencing performance comparison." *Nature biotechnology* vol. 31,4 (2013): 294-6. doi:10.1038/nbt.2522



Co-funded by the European Union

Projekt „Genomická surveillance vybraných infekčních nemocí v České republice“ (HERA2CZ) je spolufinancován Evropskou unií. Prezentované názory a postoje však představují pouze názory autorů a nemusí nutně odrážet názory a postoje Evropské unie nebo Evropské výkonné agentury pro zdraví a digitální oblast (HaDEA). Ani Evropská unie, ani Evropská výkonná agentura pro zdraví a digitální oblast (HaDEA) za ně nemohou nést odpovědnost.

