

Renforcer la surveillance des infections nosocomiales grâce au séquençage du génome bactérien

Identification complète des isolats pathogènes à l'aide du séquençage d'Illumina et de l'application SRST2 BaseSpace^{MC} App

illumina^{MD}

Introduction

Les infections nosocomiales (HAI, Healthcare-Associated Infection) représentent un problème de santé majeur, en particulier chez les patients gravement malades et immunodéprimés. Non seulement les HAI menacent la santé et la vie des patients, mais elles entraînent également un fardeau économique supplémentaire pour les patients et le système de soins de santé, notamment une perte économique directe et une hospitalisation prolongée^{1,2}. La surveillance des souches bactériennes pathogènes dans les établissements de soins de santé peut aider à prévenir l'impact des HAI. Les méthodes de laboratoire, telles que la réaction de polymérisation en chaîne quantitative (qPCR, Quantitative Polymerase Chain Reaction) et la spectrométrie de masse, permettent une identification rapide des agents pathogènes, accélérant ainsi la prise de décisions thérapeutiques. Cependant, ces méthodes sont insuffisantes pour le suivi des épidémies ou la réalisation d'enquêtes sur la transmission.

Le séquençage de nouvelle génération (SNG) permet la caractérisation complète des génomes bactériens, en fournissant des renseignements pour le sous-typage, la différenciation entre les isolats, la mise en évidence des isolats dans un amplifiat, et les marqueurs de résistance aux antimicrobiens (RAM) et de virulence³. L'analyse et l'interprétation rapides des données de séquençage permettent au personnel responsable de la prévention des infections de réagir rapidement aux épidémies potentielles et d'identifier la source pour aider à prévenir toute nouvelle transmission et infection. Après un flux de travail complet de séquençage du génome entier (WGS, Whole-Genome Sequencing) qui peut être terminé en deux jours, la propagation des agents pathogènes responsables des HAI peut être surveillée efficacement et gérée correctement.

Le *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) est un agent pathogène multirésistant qui présente des taux de morbidité et de mortalité plus élevés que les souches de *S. aureus* sensible à la méthicilline. Les infections causées par les souches de *S. aureus* résistant à la méthicilline acquis en milieu hospitalier (SARM-AH) nécessitent des séjours à l'hôpital plus longs que celles causées par les souches de *S. aureus* sensible à la méthicilline acquis en milieu hospitalier et sont généralement résistantes aux antibiotiques non- β -lactame et aux antibiotiques β -lactame.

Pour caractériser les isolats de SARM-AH ou d'autres espèces bactériennes, Illumina propose l'application SRST2* dans le cadre d'une solution de WGS complète qui comprend la préparation des bibliothèques Illumina et le séquençage (figure 1). Disponible dans BaseSpace Sequence Hub, l'application SRST2 indique la présence de types de séquence (ST, Sequence Type) à partir d'une base de données de typage de séquence multi-locus (MLST, Multi-Locus Sequence Typing)⁴ et de gènes de référence à partir d'une base de données de séquences pour les gènes de virulence, les gènes de résistance et les réplicons de plasmide avec comparaison d'échantillon à échantillon sur plus de 150 genres et espèces bactériens. L'application SRST2 a été mise à jour pour ajouter la base de données Comprehensive Antibiotic Resistance Database (CARD) et la base de données ARG-Annot en plus de ResFinder.

Cette note d'application démontre les capacités de l'application SRST2 mise à jour pour identifier et caractériser les isolats pathogènes, rendant ainsi la surveillance des HAI accessible aux laboratoires sans nécessiter d'expérience préalable en SNG.

* Typage de séquence de lectures courtes

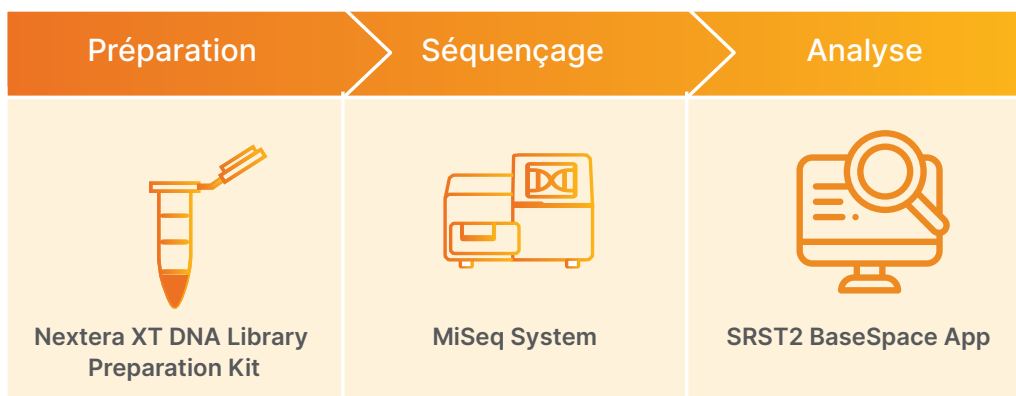


Figure 1 : Flux de travail de surveillance des HAI – SRST2 BaseSpace App fait partie d'un flux de travail de SNG complet pour la surveillance des HAI qui comprend la préparation de bibliothèques Illumina et le séquençage.

Méthodes

Échantillons

Pour cette étude, des isolats de *S. aureus* (un isolat provenant de liquide pleural, un isolat provenant de liquide de hanche, un isolat provenant d'os, un isolat provenant de liquide corporel inconnu et 23 isolats provenant de sang) ont été recueillis en 2016 (à partir de plusieurs sites cliniques dans les comtés de Hennepin et Ramsey dans le Minnesota) dans le cadre de la surveillance normale par le Minnesota Department of Health (MDH)⁵.

Préparation des échantillons

Les isolats ont été obtenus sous forme de cryostocks auprès du MDH, striés sur des plaques de gélose standard contenant du sang et incubés à 37 °C pour obtenir des colonies uniques, qui ont été inoculées et cultivées pendant la nuit à 37 °C dans un bouillon de soja tryptique. L'ADN génomique a été isolé à l'aide de QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN, référence n° 51304), en complétant le tampon AL avec de la lysostaphine. La concentration et la qualité de l'ADN ont été déterminées à l'aide d'un spectrophotomètre NanoDrop 2000 et d'un fluorimètre Qubit Flex (Thermo Fisher Scientific, référence n° Q33327).

Préparation des bibliothèques et séquençage

Les bibliothèques de séquençage ont été préparées à l'aide de Nextera^{MC} XT DNA Library Preparation Kit, 24 échantillons (Illumina, référence n° FC-131-1024) et multiplexées à l'aide de Nextera XT Index Kit v2 Set A (Illumina, référence n° FC-131-2001). Le WGS a été réalisé sur le MiSeq^{MC} System d'Illumina à l'aide d'une analyse à lecture appariée de 2 × 300 pb.

Analyse des données

Les fichiers de séquençage ont été analysés avec l'application SRST2 dans BaseSpace Sequence Hub.

Résultats

Selon plusieurs bases de données, l'application SRST2 a révélé que les isolats peuvent être regroupés en deux amplifiants distincts (figure 2). Plusieurs allèles MLST différencient ces deux principaux amplifiants et les subdivisent en amplifiants plus petits d'isolats étroitement liés (figure 3). À l'aide de la base de données CARD, l'application SRST2 détecte plusieurs gènes de résistance tels que l'*ErmA*, qui est associé à une résistance aux antibiotiques macrolides, l'une des classes d'antibiotiques oraux les plus prescrits aux États-Unis (figure 4)⁶.

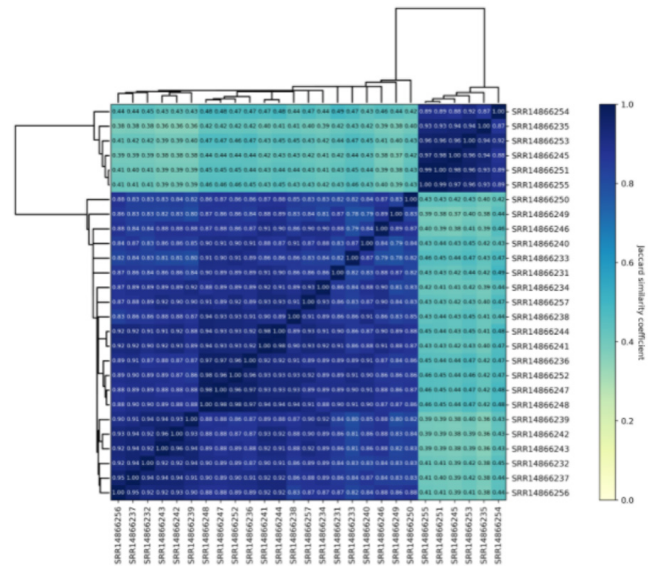
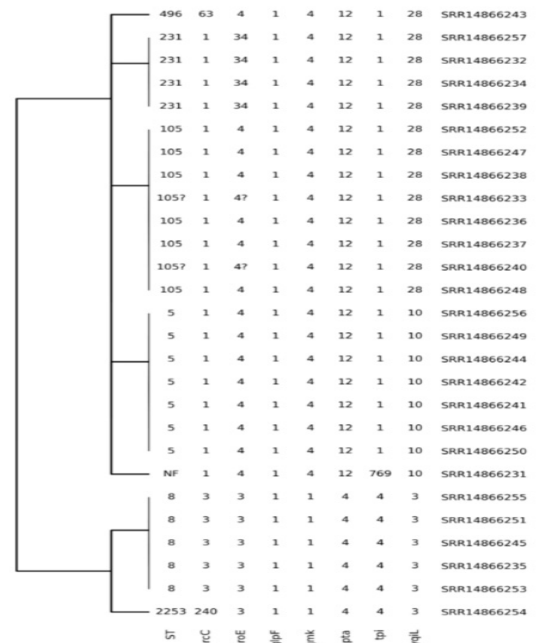


Figure 2 : Regroupement d'isolats avec l'application SRST2 – L'analyse des données de WGS regroupe les isolats similaires (bleu foncé) en fonction des allèles détectés dans plusieurs bases de données.



« NF » est utilisé pour indiquer les combinaisons d'allèles introuvables (« Not Found ») dans la base de données MLST
 (*) est utilisé pour indiquer une incertitude dans les types de séquence appelés
 (†) est utilisé pour indiquer des correspondances imprécises dans les types de séquence appelés

Figure 3 : Profils d'allèles MLST calculés à partir du WGS – L'application SRST2 regroupe les isolats en fonction du nombre d'allèles partagés.

Resistance Gene Database - CARD

Show 25 entries

Search:

Sample	ANT4_AgIy	APH3_AgIy	Erm_MLS	FosB_Fcyn	MphC_MLS	MsrA_MLS	NorA_Fliq
SRR14866231	-	-	ermA_2135	fosB_1_1906*	-	-	norA_1920
SRR14866232	-	-	ermA_2135	fosB_1_1906*	-	-	norA_1920*
SRR14866233	-	-	ermA_2135	fosB_1_1906*7	mphC.v1_2177	msrA.v1_2191*	norA_1920*
SRR14866234	ant4-Id_128*	-	ermA_2135*	fosB_1_1906*	-	-	norA_1920*
SRR14866235	-	aph3-IIIa_153	ermC.v1_2138*	fosB_1_1906	mphC.v1_2177	msrA.v1_2191*	norA_1920*
SRR14866236	-	-	ermA_2135	fosB_1_1906*	mphC.v1_2177	msrA.v1_2191*	norA_1920*
SRR14866237	-	-	ermA_2135	fosB_1_1906*	-	-	norA_1920*
SRR14866238	ant4-Id_128*	aph3-IIIa_153	ermA_2135	fosB_1_1906*	mphC.v1_2177	msrA.v1_2191*	norA_1920*
SRR14866239	ant4-Id_128*	-	ermA_2135	fosB_1_1906*	-	-	norA_1920*
SRR14866240	ant4-Id_128*	aph3-IIIa_153	ermA_2135	fosB_1_1906*7	mphC.v1_2177	msrA.v1_2191*	norA_1920*
SRR14866241	-	-	ermA_2135	fosB_1_1906*	-	-	norA_1920*
SRR14866242	ant4-Id_128*	-	ermA_2135	fosB_1_1906*	-	-	norA_1920*
SRR14866243	ant4-Id_128*	-	ermA_2135	fosB_1_1906*	-	-	norA_1920*
SRR14866244	-	-	ermA_2135	fosB_1_1906*	-	-	norA_1920*
SRR14866245	-	aph3-IIIa_153	-	fosB_1_1906	mphC.v1_2177	msrA.v1_2191*	norA_1920*
SRR14866246	ant4-Id_128	-	ermC.v1_2138	fosB_1_1906*	-	-	norA_1920
SRR14866247	-	-	ermA_2135	fosB_1_1906*	mphC.v1_2177	msrA.v1_2191*	norA_1920*
SRR14866248	-	-	ermA_2135	fosB_1_1906*	mphC.v1_2177	msrA.v1_2191*	norA_1920*
SRR14866249	-	-	ermC.v1_2138	fosB_1_1906*	-	-	norA_1920
SRR14866250	-	aph3-IIIa_153	-	fosB_1_1906*	mphC.v1_2177	msrA.v1_2191*	norA_1920
SRR14866251	-	aph3-IIIa_153	-	fosB_1_1906	mphC.v1_2177	msrA.v1_2191*	norA_1920*
SRR14866252	-	-	ermA_2135	fosB_1_1906*	mphC.v1_2177	msrA.v1_2191*	norA_1920*
SRR14866253	-	aph3-IIIa_153	ermC.v2_2139*7	fosB_1_1906	mphC.v1_2177	msrA.v1_2191*	norA_1920*
SRR14866254	-	-	ermC.v2_2139*	fosB_1_1906	-	-	norA_1920*
SRR14866255	-	aph3-IIIa_153	-	fosB_1_1906*	mphC.v1_2177	msrA.v1_2191*	norA_1920*

Showing 1 to 25 of 27 entries

Previous 1 2 Next

Figure 4 : Rapport sur les gènes de résistance – L'application SRST2 comprend un tableau interactif qui indique quels allèles de la base de données CARD sont détectés dans chaque isolat.

Résumé

Les HAI sont un problème de santé majeur, contribuant à une morbidité et une mortalité élevées et à une augmentation des dépenses de santé. À l'aide d'un flux de travail de SNG qui comprend l'analyse des données avec l'application SRST2, il est possible de détecter la présence de gènes associés à des phénotypes pertinents sur le plan clinique, notamment les gènes de virulence, les gènes de RAM ou les déterminants de sérotypes. Grâce à la préparation rapide des bibliothèques Illumina et au MiSeq System, les génomes bactériens peuvent être entièrement séquencés et analysés en deux jours, ce qui permet une surveillance des HAI en temps opportun.

illumina^{MD}

Numéro sans frais aux États-Unis : + (1) 800 809-4566 | Téléphone : + (1) 858 202-4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2023 Illumina, Inc. Tous droits réservés. Toutes les marques de commerce sont la propriété d'Illumina, Inc. ou de leurs détenteurs respectifs. Pour obtenir des renseignements sur les marques de commerce, consultez la page www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-01570 FRA v1.0

En savoir plus

[SRST2 BaseSpace App](#)

Références

- Henderson A, Nimmo GR. [Control of healthcare- and community-associated MRSA: recent progress and persisting challenges.](#) *Br Med Bull.* 2018;125(1):25-41. doi:10.1093/bmb/ldx046.
- Jia H, Li L, Li W, et al. [Impact of Healthcare-Associated Infections on Length of Stay: A Study in 68 Hospitals in China.](#) *Biomed Res Int.* 2019;2019:2590563. Publié le 18 avril 2019. doi:10.1155/2019/2590563.
- Mirande C, Bizine I, Giannetti A, Picot N, van Belkum A. [Epidemiological aspects of healthcare-associated infections and microbial genomics.](#) *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2018;37(5):823-831. doi:10.1007/s10096-017-3170-x.
- Huang W, Wang G, Yin C, et al. [Optimizing a Whole-Genome Sequencing Data Processing Pipeline for Precision Surveillance of Health Care-Associated Infections.](#) *Microorganisms.* 2019;7(10):388. Publié le 24 septembre 2019. doi:10.3390/microorganisms7100388.
- Khan SA, Gudeta DD, Aljahdali N, et al. [Draft Genome Sequences of 27 Hospital-Associated Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Strains Isolated in Minnesota.](#) *Microbiol Resour Announc.* 2022;11(2):e0118621. doi:10.1128/mra.01186-21.
- Centers for Disease Control and Prevention. [Outpatient antibiotic prescriptions — United States, 2021.](#) cdc.gov/antibiotic-use/data/report-2021.html. Mis à jour le 4 octobre 2022. Consulté le 25 janvier 2023.