

Ново-Генерационно Секвениране за Идентификация на патогени по храни

Доц. Андрей Галев, д.м.

Национален консултант по епидемиология на инфекциозните заболявания

Традиционни методи срещу Ново-генерационно Секвениране

Ново-Генерационното секвениране (NGS)
дава възможност за откриване и анализ на патогени без хипотези



Предизвикателства пред
традиционните методи

- Необходими са предварителни познания за бактериални или вирусни таргети
- Липса на чувствителност за откриване на бактериална / вирусна ДНК или РНК в много ниска концентрация на фона на ДНК и РНК на гостоприемника
- При вируси, PCR тестовете стават неефективни с течение на времето поради промяната на антигени
- Наличието на малко количество проба

Традиционни методи срещу Ново-генерационно Секвениране

Ново-Генерационното секвениране (NGS)
дава възможност за откриване и анализ на патогени без хипотези



Предимства на NGS

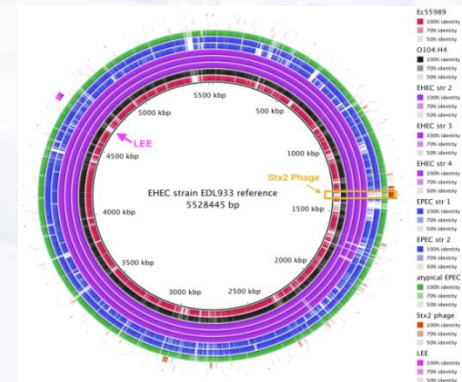
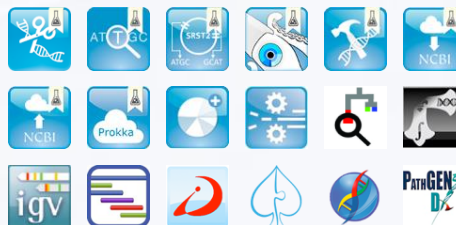
- **Откриване на патогени** с висока точност
- **Висока чувствителност** - способност да предоставят информация за ко-инфекции, квази видове и нови бактерии или вируси
- **Данни с висока резолюция** за геномно сравнение и характеризиране
- **Мултиплексиране** на много проби
- Подпомага метагеномиката и изучаването на връзките между **патоген-гостоприемник**
- Цялостно геномно секвениране на бактерии и вируси

Какво предлага ново-генерационното секвениране в областта на за микробиология?

- Цялостно геномно секвениране на бактериални и вирусни геноми
- Прецизна идентификация на микроорганизмите в дадена проба на ниво щам и серотип
- Детекция на гени за различни типове антибиотична резистентност
- Филогенетична класификация
- Епидемиологични изследвания
- Идентифициране на гени, свързани с токсичност и вирулентност

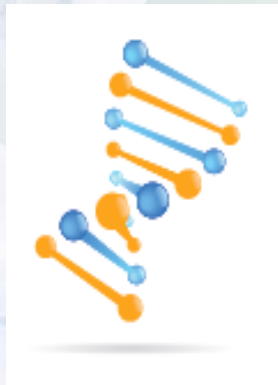


BaseSpace®



Основни NGS метода в Микробиологията

Цялостно- геномно секвениране



Микробното цялостно геномно секвениране е основен метод за определяне на геномите на нови микроорганизми, доопределяне на геномите на вече известни микроорганизми или сравняване на геноми в множество проби. Разделянето на цели бактериални, вирусни и други микробни геноми е важно за генериране на точни референтни геноми, за идентифициране на микроорганизми и за други сравнителни геномни изследвания.

Основни NGS метода в Микробиологията

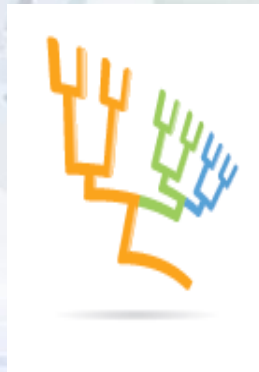
Shotgun метагеномно секвениране



Със способността да комбинира много микробиоми в един секвенционен рън и да получи високо секвенционно покритие на една проба, Shotgun метагеномно секвениране може да открие много слабо представени членове на микробната общност, които могат да бъдат пропуснати с други методи. Методът позволява на микробиолозите да оценят бактериалното разнообразие и да открият изобилието на микроби в различни среди.

Основни NGS метода в Микробиологията

16S rRNA секвениране



Секвенирането на 16S рибозомалната РНК (rRNA) е често използван метод за идентифициране и сравнение на бактерии, присъстващи в дадена проба. Това е добре установен метод за сравняване на пробата по филогенеза и таксономия при сложни микробиоми или среди, които са трудни или невъзможни за изследване.

Етапи в NGS Работния процес

Подготовка на
пробата



Екстракция на РНК
или ДНК



Приготвяне на
библиотеки



16S протокол
Nextera DNA Flex
Library Prep Kit



Секвениране



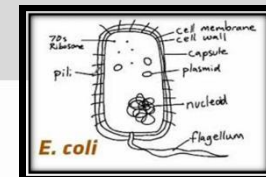
MiSeq® Система



Анализ



Cloud-BasedSpace®,
Local MiSeq Reporter
16S Metagenomics



FDA избира MiSeq системата за ново-генерационен секвенатор за идентификация на Хранителни патогени

Food Safety News

Breaking news for everyone's consumption

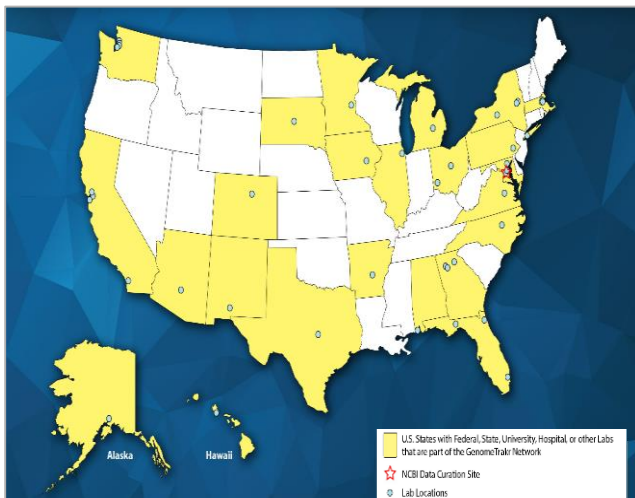
Home Foodborne Illness Outbreaks Food Recalls Food Politics Events Subscribe About

FDA Spends \$17 Million to Go After Pathogens Faster

BY NEWS DESK | SEPTEMBER 19, 2012

The U.S. Food and Drug Administration (FDA) is spending \$17 million on technology it hopes will be fast enough to catch fresh produce with pathogen contamination.

FDA has awarded a five-year contract to Illumina Inc, a San Diego-based technology company involved in accelerating genetic research. Illumina will provide FDA with its MiSeq sequencing systems and reagents for conducting whole genome analysis on produce and produce-related environmental Salmonella and shigatoxinogenic E. coli.



Genome Trakr Мрежа

- Първата лабораторна мрежа използваща WGS и координираща усилията сред щатски, федерални и университетски лаборатории за идентификация на патогени
- Секвениране на патогени, събрани от огнища на замърсени храни и източници в околната среда
- Секвенционните данните се архивират и съхраняват обществени бази данни в NCBI
- Genome Trakr е с отворен достъп, за да даде възможност за анализ в реално време, ускоряване на разследванията и намаляване на заболяванията и смъртността



След това...

Цялостно-геномно секвениране на храни базирано на
ново-генерационно секвениране



Защо е важно да получим правилен резултат?

Социални и търговски последици

- ▶ Пример:

Избухване на инфекция със Shiga Toxin – продуциращи *Escherichia coli* - 2011, Германия

- ▶ Традиционните културални и PCR методи грешно определят испанските краставици като причина за фаталната епидемия от *E. coli*
- ▶ Тези краставици са били носители на патогенния щам Shiga Toxin – продуциращи *Escherichia coli*, но това не е бил същия вирулентен щам, който е причинил смъртни случаи
- ▶ Европейският съюз изплати 227 млн. евро обезщетение на производителите на краставици



Благодаря за вниманието!

