Секвениране от ново поколение с приложение в общественото здравеопазване
Опит от Европейската мрежа на ГМО лабораториите

Проф. Цвета Георгиева, дм

Национален център по обществено здраве и анализи

fppt.com

ONE HELATH – ONE METHOD

«Между медицината за животни и хора няма разделителна линия, нито трябва да има! Обектът е различен, но опитът е основата на цялата медицина»

Rudolf Virchow (1958)

fppt.com

Съдържание:

- Защо да използваме NGS за изследване и наблюдение на огнища от патогени?
- Опит от практиката
- Защо е нужна акредитация?
- Каква е ролята на биоинформатиката?
- Възникващи въпроси

fppt.com

Предпоставки за търсене на решения с подхода WGS в Европейската мрежа на ГМО лабораториите (ENGL) 2019

- Решение на съда, относно продуктите на генно редактиране , 2018 *(Case C-528/16)*
- Работна група
- Дискусии
- Предизвикателствата се отнасят за всички държави-членки и сфери на приложение?

fppt.com

Идеалният инструмент за молекулна характеристика

- Сигурен
- Лесно приложим и стандартизиран
- Достатъчно разграничаващ
- Обективни данни → подходяща интерпретация и трансфер между лаборатории, възпроизводимост и преносимост ?
- Бърз
- Евтин ?
- Универсално приложим

fppt.com

Предимства на Whole genome sequencing (WGS)

- бърз
- опростен работен процес
- висока чувствителност
- мултиплексен
- Характеристика: 1 тест > от 1 отговор наведнъж:

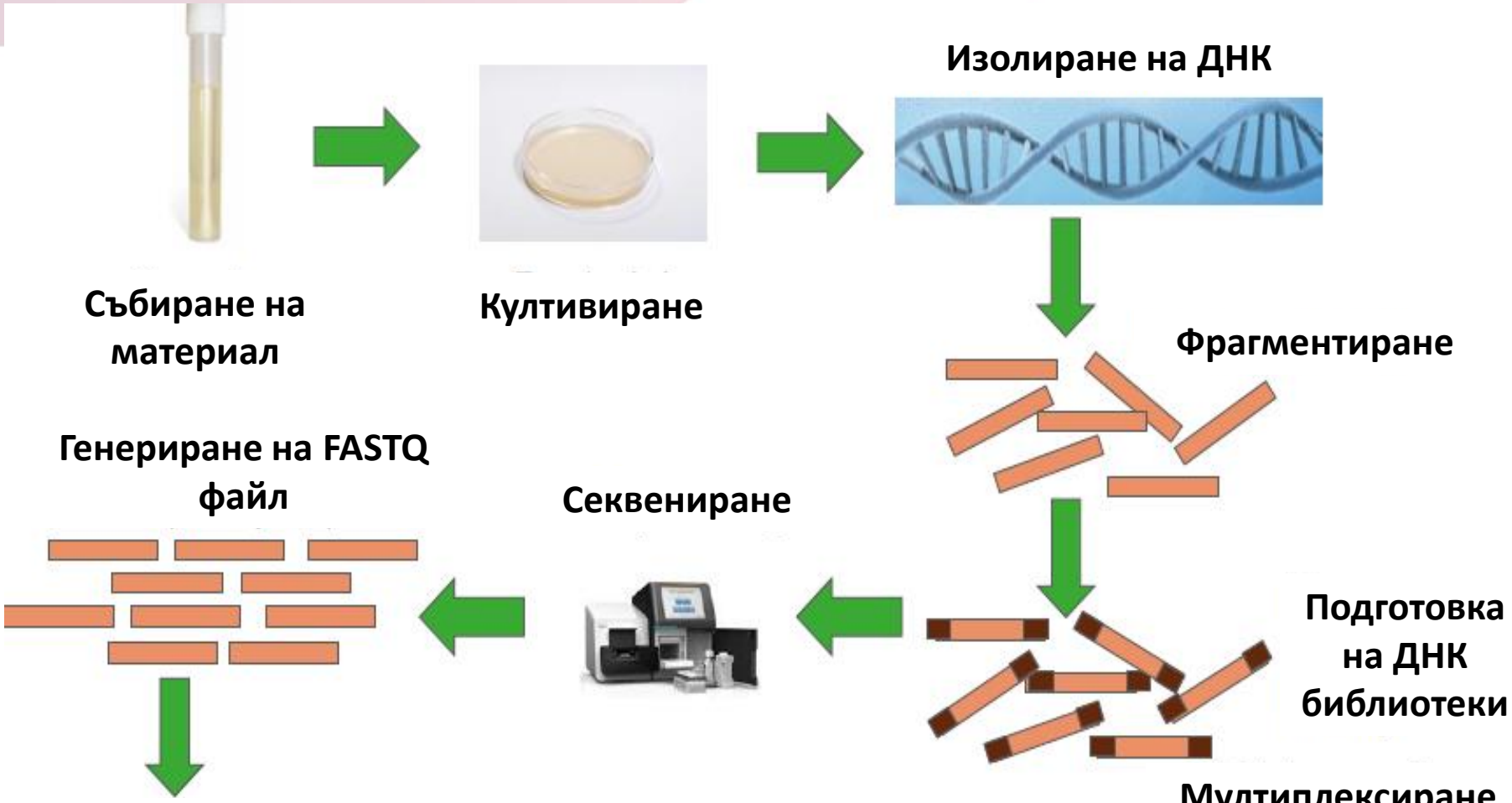
✓ Идентификация
✓ Определяне на произход
✓ Резистентност – прогноза
✓ Серотипизиране
✓ Профилиране на вирулентност
✓ Характеристика на плазмиди
✓ Субтипизиране

- намаляване на разходи и време **?**

« One method to rule them all… »

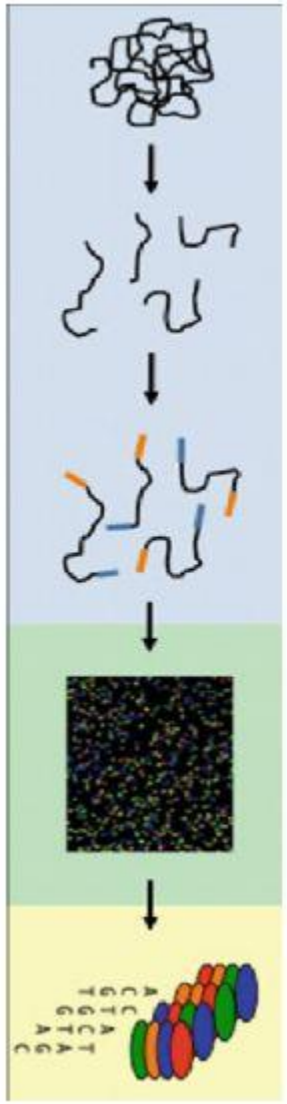
fppt.com

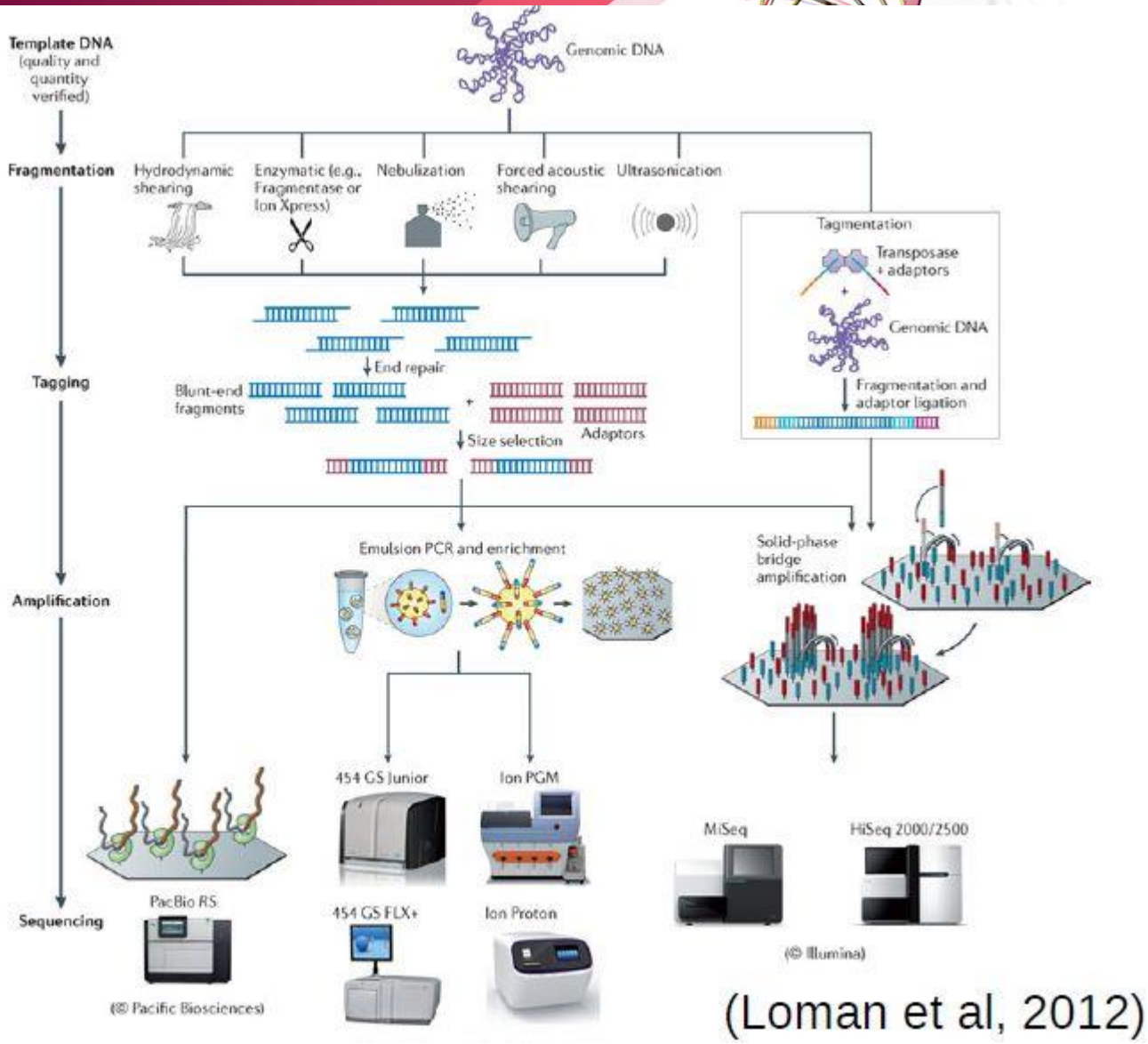
Основни етапи на процеса на секвениране от ново поколение



fppt.com

Принципи на секвенирането от ново поколение





(Loman et al, 2012)

fppt.com

WGS в контекста на общественото здраве

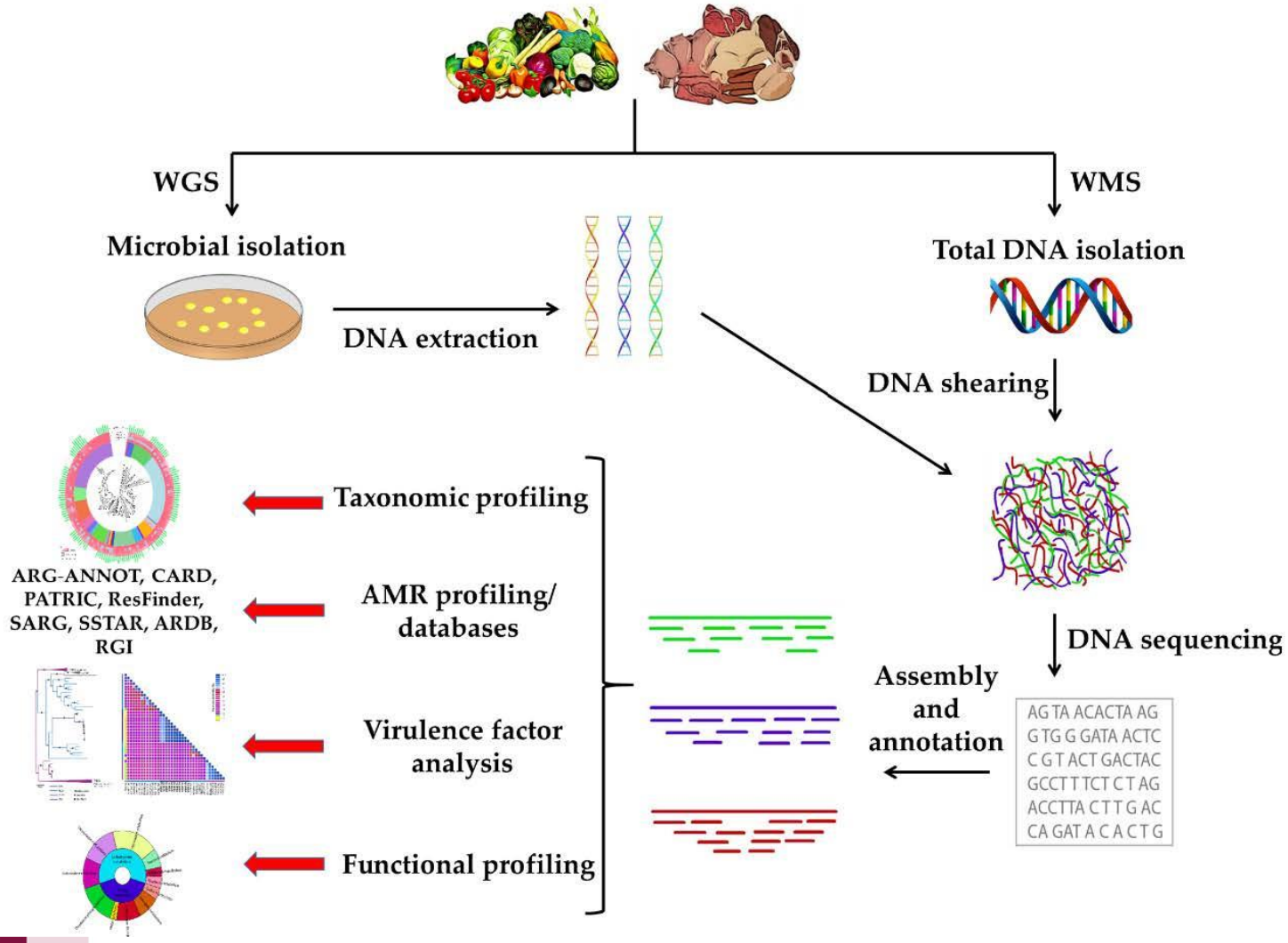
WGS: потенциал за замяна на използваните понастоящем класически методи за (суб) типизиране и характеризиране

Необходимост от валидиране, за да се демонстрира, че WGS е годен за целите според системата за управление

Понастоящем няма официална хармонизирана насока за валидиране на WGS за използване при наблюдение и разследване на огнища (***в процес на разработка...***)

Липса на данни за ефективността на WGS по отношение на повторяемост на резултати, достоверност на данни и т.н.

fppt.com


WGS
WMS
Microbial isolation
DNA extraction
Total DNA isolation
DNA shearing
DNA sequencing
Assembly and annotation
AG TA ACACTA AG
G TG G GATA ACTC
C G T ACT GACTAC
GCCT T TCT C T AG
ACCTTA C T T G AC
CA GAT A C A C T G
Taxonomic profiling
ARG-ANNOT, CARD, PATRIC, ResFinder, SARG, SSTAR, ARDB, RGI
AMR profiling/ databases
Virulence factor analysis
Functional profiling

fppt.com

Develop NGS Laboratory Accreditation Requirements

Guiding Principle – Find the Right Regulatory Balance

- Foster Innovation and Adoption of NGS Clinical Testing
- Assure Patient Safety

fppt.com

Current CAP NGS Laboratory Accreditation Requirements - 2016

- **Primary/Referring Laboratory**
  - NGS Reference Lab Policy
  - NGS Confirmatory Testing Policy
  - NGS Sample Provenance Tracking
- **General**
  - Exception Log/Record
  - Data Storage Local/Cloud
  - Data Transfer Confidentiality
- **Wet Bench**
  - NGS Wet Bench Process Documentation
  - NGS Wet Bench Process Validation
  - Quality Management Plan
  - Laboratory Records
  - Monitoring of Upgrades
- **Bioinformatics**
  - NGS Bioinformatics Pipeline Documentation
  - NGS Bioinformatics Pipeline Validation
  - Quality Management Plan
  - Pipeline Version Traceability
  - Monitoring of Upgrades
- **Interpretation**
  - Sequence Variants Interpretation and Reporting
  - Reporting of Incidental Genetic Findings

fppt.com

Възникващи въпроси:

Дали NGS секвенирането е приложим инструмент за рутинен анализ? В кой случай? Покрива ли аналитични / технологични грешки?

Кои са недостатъците / затрудненията, които възпрепятстват прилагането на NGS в рутинната лабораторна практика?

Какъв е нашият опит в различните стъпки от вземането на проба до получаването на необходимите данни: пробовземане, екстракция на ДНК, подготовка на библиотеки за секвениране, подходи за секвениране, **биоинформационен анализ**?

Кои параметри на ефективността използвате в различните стъпки?

Брой лаборатории, проби (данни за референтни материали или биоинформатика) и оборудване, необходими за процеса на валидиране.

fppt.com

Литературни източници

- В настоящата презентация за използвани материал от 30та Пленарна среща на Европейската мрежа на ГМО лабораториите (ENGL) , октомври, 2109
- Презентации на Dr. Nancy Roosens and Dr. Ir. Sigrid De Keersmaecker, Transversal Activities in Applied Genomics , Sciensano, Belgium
- Документи от работни групи на Мрежата на ГМО лабораториите
- IMPROVING FOOD SAFETY THROUGH A ONE HEALTH APPROACH, ISBN978-0-309-25933, Copyright © National Academy of Sciences, USA

fppt.com

Благодаря за вниманието !

fppt.com