

Next-Generation Sequencing; Pandora's doos of de Heilige graal?

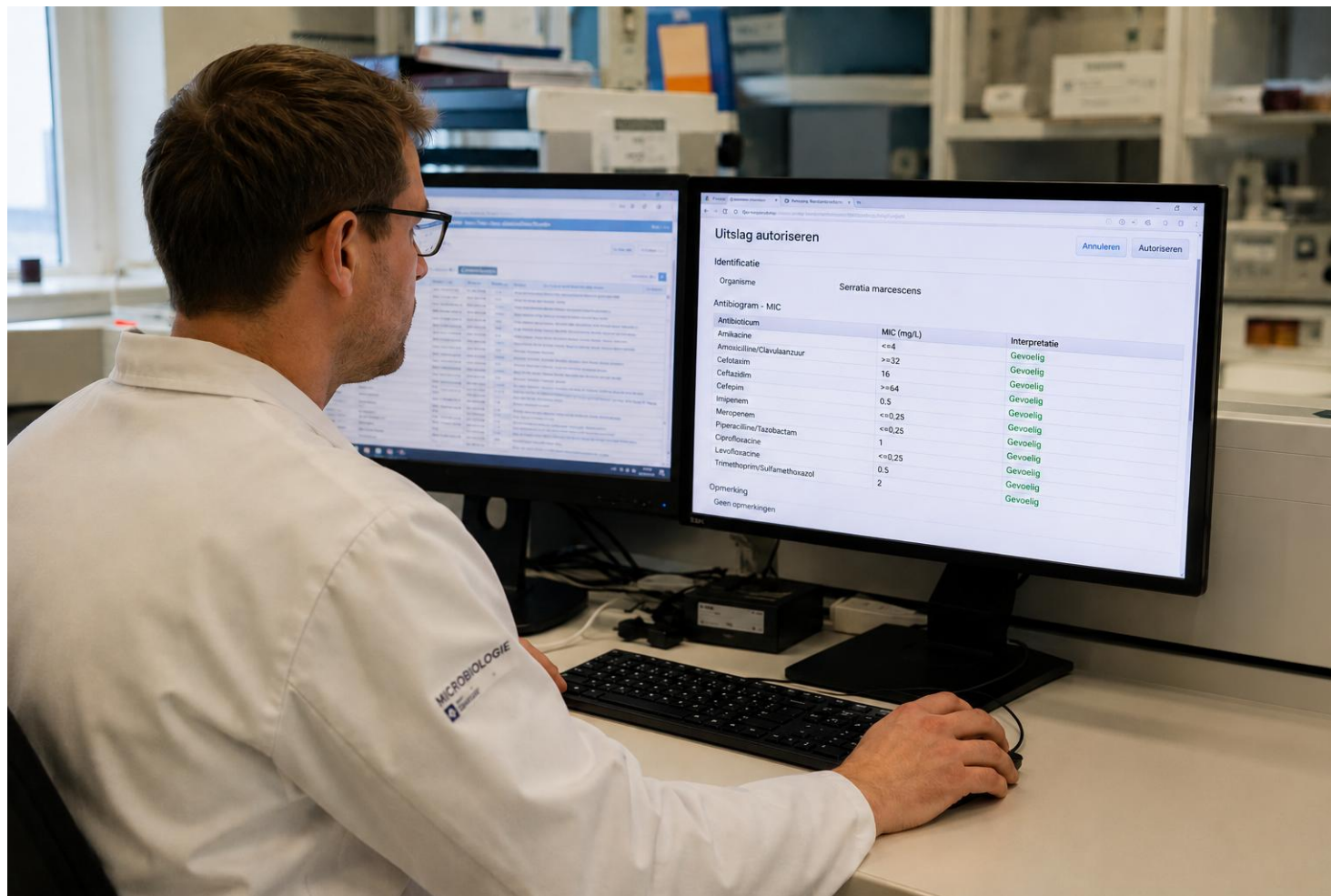
Ali Auzin & Tim Severs

isala

DRAGON

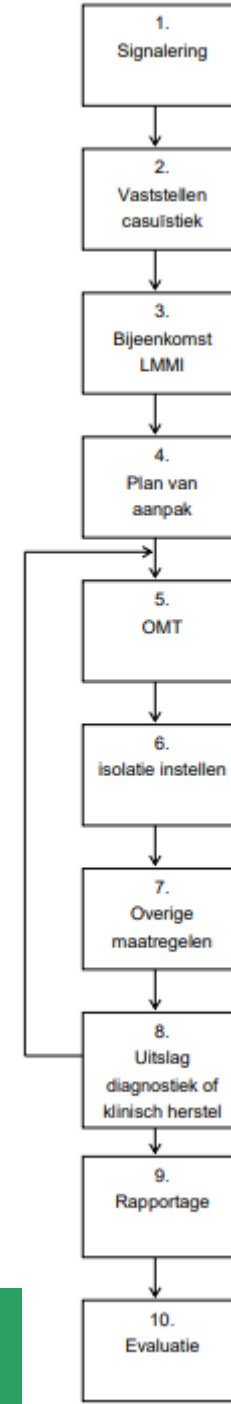
www.amrzorgnetwerkez.nl

Een normale dienstweek als arts-microbioloog



Outbreak-Management

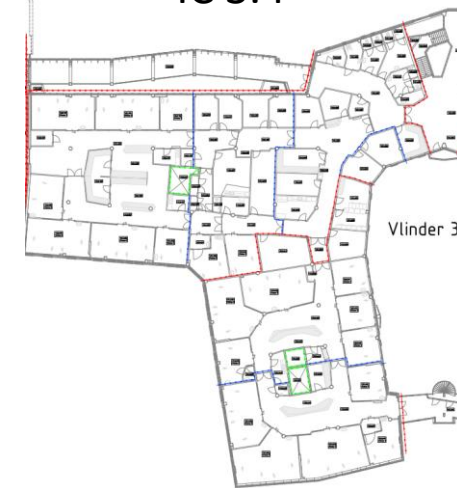
- Signalering
 - Intern of extern
- Vaststellen casuïstiek
 - Inventarisatie door IP (epicurve/situatieschets)
 - Opname en medische historie
 - Afdeling en personeel
 - Incubatietijd
 - Duur ziekteverschijnselen
 - Besmettingswegen
 - Inventarisatie door AM
 - Eigenschappen micro-organisme
 - Complicaties
 - Behandeling en vaccinaties



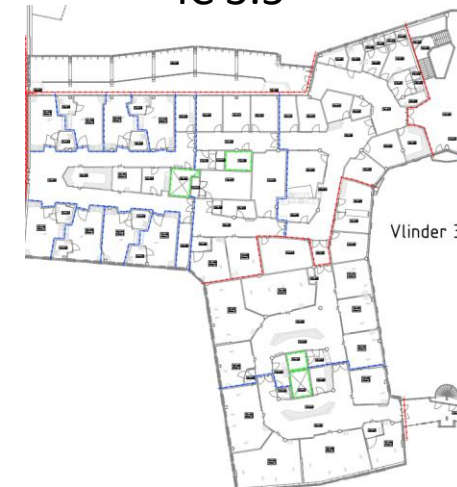
Situatieschets

- 10 patiënten positief in van augustus tot oktober 2025
 - Veelal langliggers
 - 9 hiervan op 1 afdeling op de IC
- Geen BRMO

IC 3.4

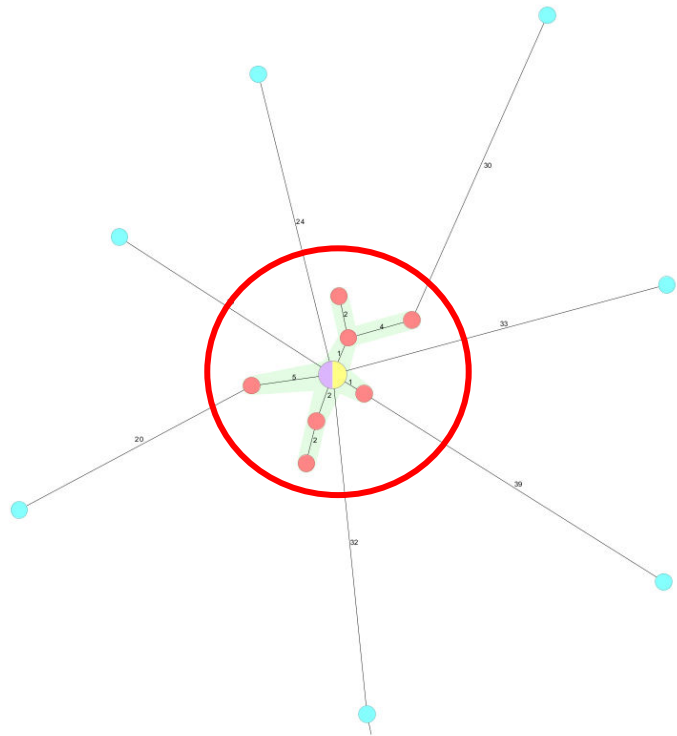


IC 3.5

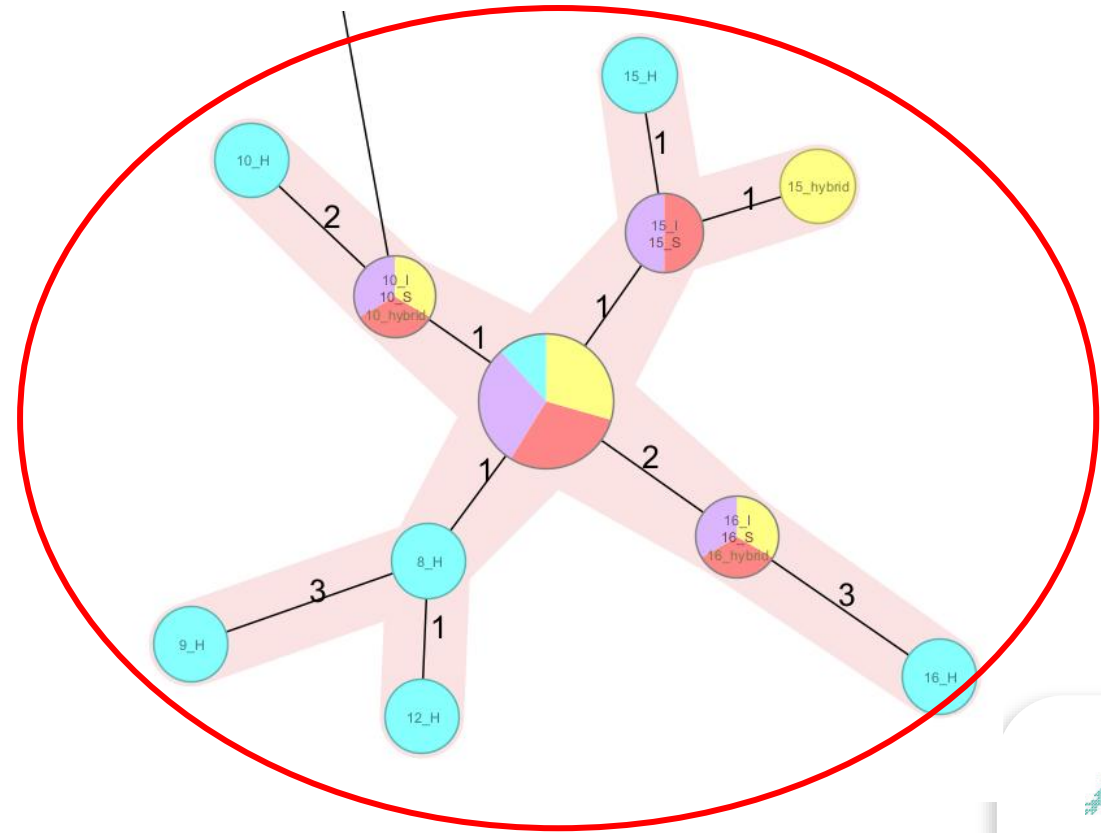


Is dit een uitbraak?

Uitbraak en incidenten



1 uitbraak



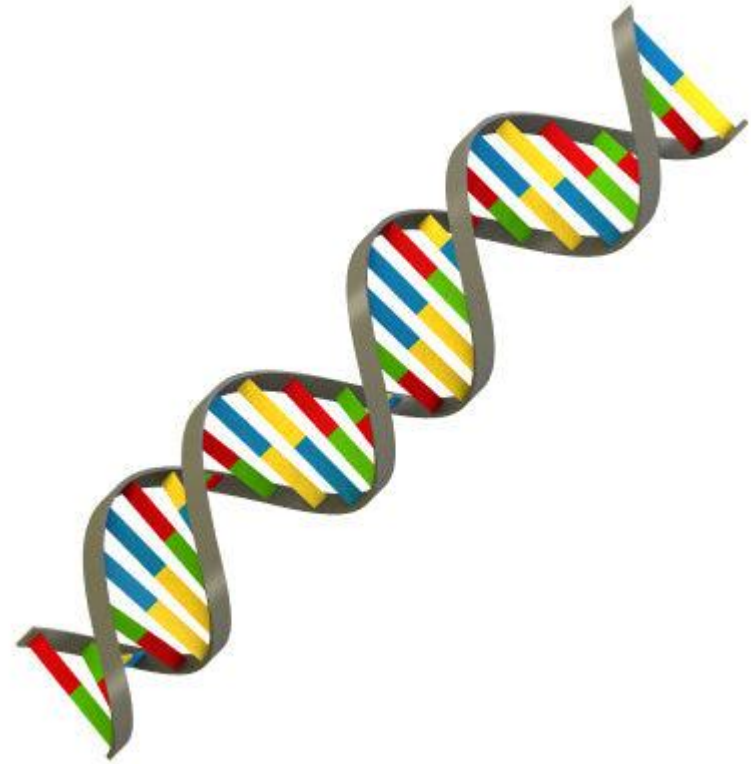
Wat was hier dan wel aan de hand?

- SDD
 - Antibiotica pasta: Tobramycine, colistine en amphotericine B
 - IV cefotaxim 4 dagen lang
- Serratia
 - Intrinsiek resistent tegen colistine
 - Verminderd gevoelig of resistent tegen tobramycine

Conclusie: Uitselectie doordat SDD niet goed/genoeg gesmeerd werd!

Achtergrond

- Bacteriële kweek
 - Indicatie
 - Verhoogde aantallen bepaalde bacterie
 - Vergelijkbaar antibiogram
- DNA bevat alle informatie
 - Opgebouwd uit 4 basen
 - A, T, C en G
 - MENS: 3,2 MILJARD baseparen
 - Bacterie: ~1-5 miljoen baseparen

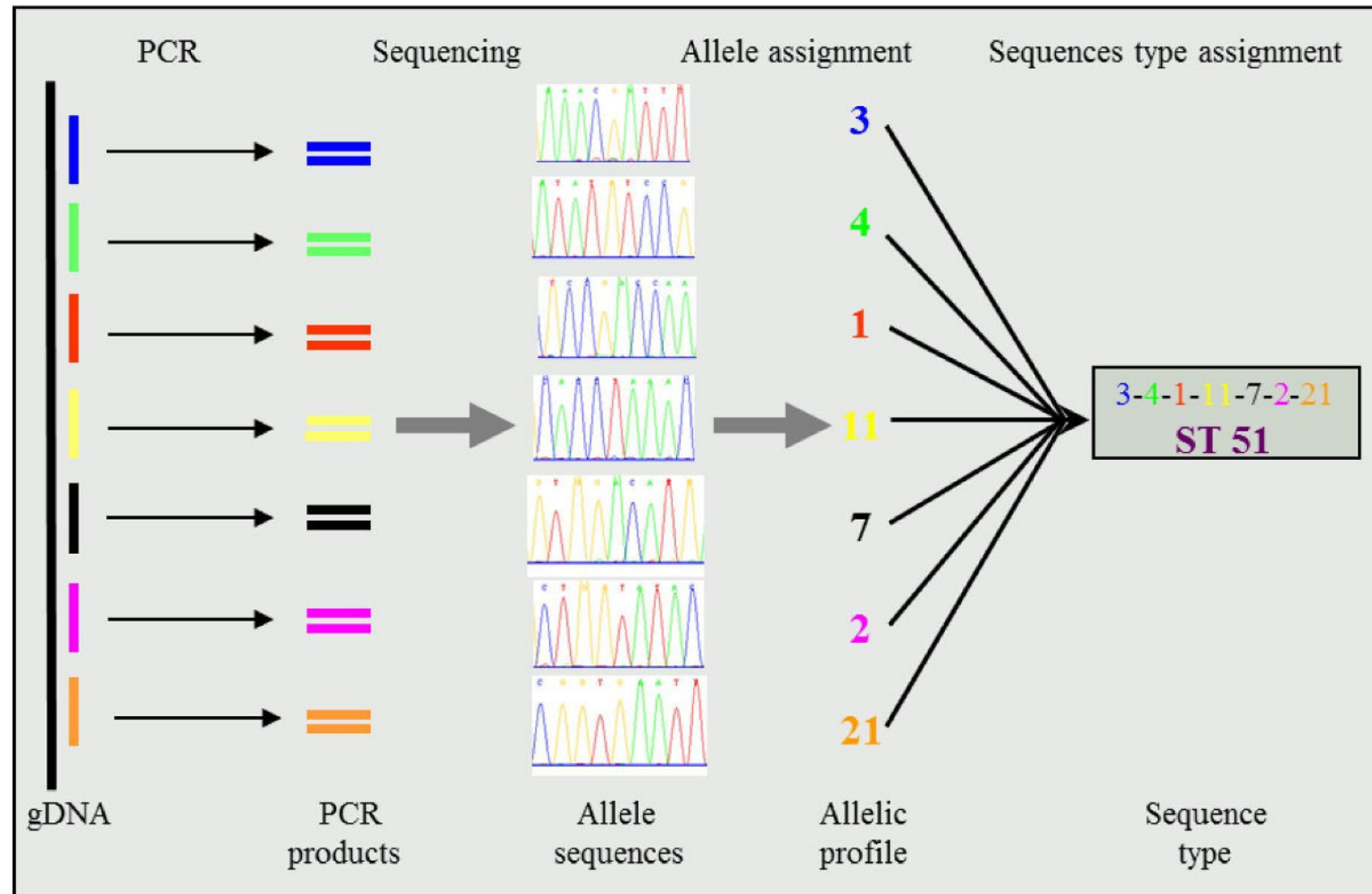


Hoe werd dit gedaan?



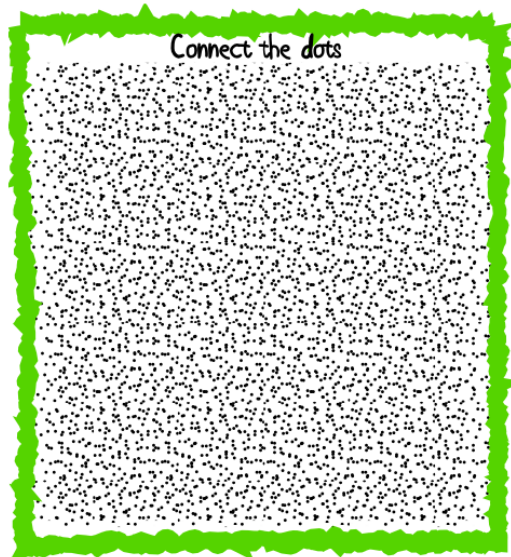
- DNA volgorde per individu uniek!
 - Volgorde bepalen = **Sequenzen**
- Multi-locus-sequence typing (**MLST**)
 - 7 huishoudgenen
 - Kritische processen in een bacterie

Hoe werd dit gedaan?

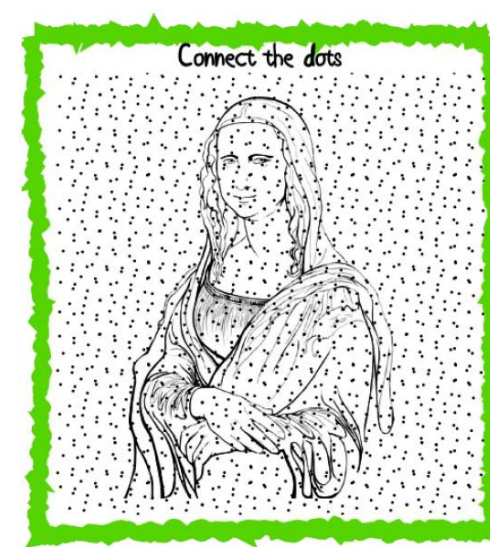
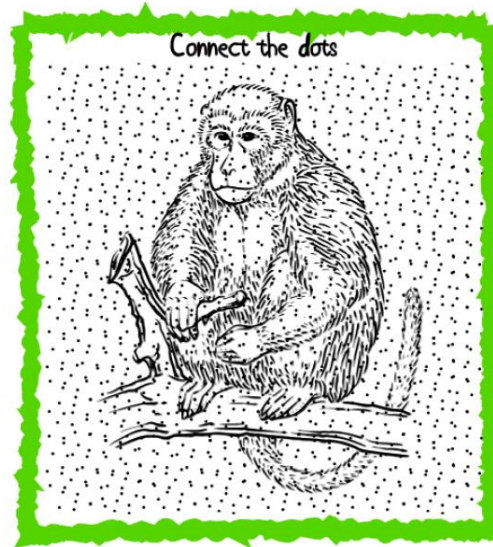


Hoe wordt het nu gedaan?

- Next-Generation Sequencing (**NGS**)
 - Whole Genome Sequencing
 - **DNA** opdelen in puzzelstukjes
 - Sequentie bepalen
 - Digitaal de puzzel leggen (**assembly**)
 - Reconstructie bacterieel genoom



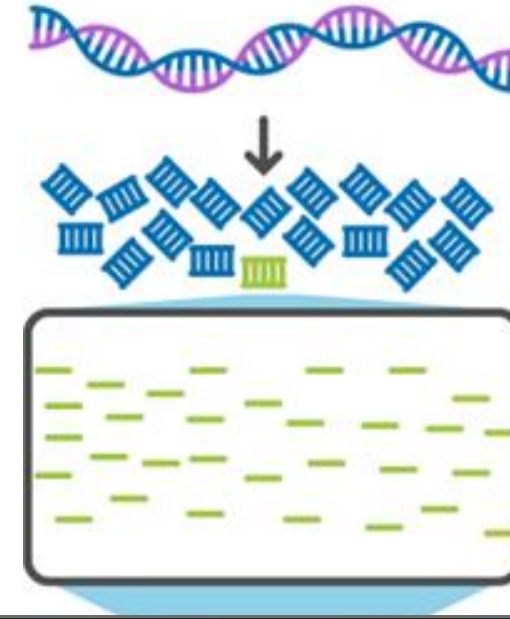
Impossible to assemble manually



Same dataset, different parameters

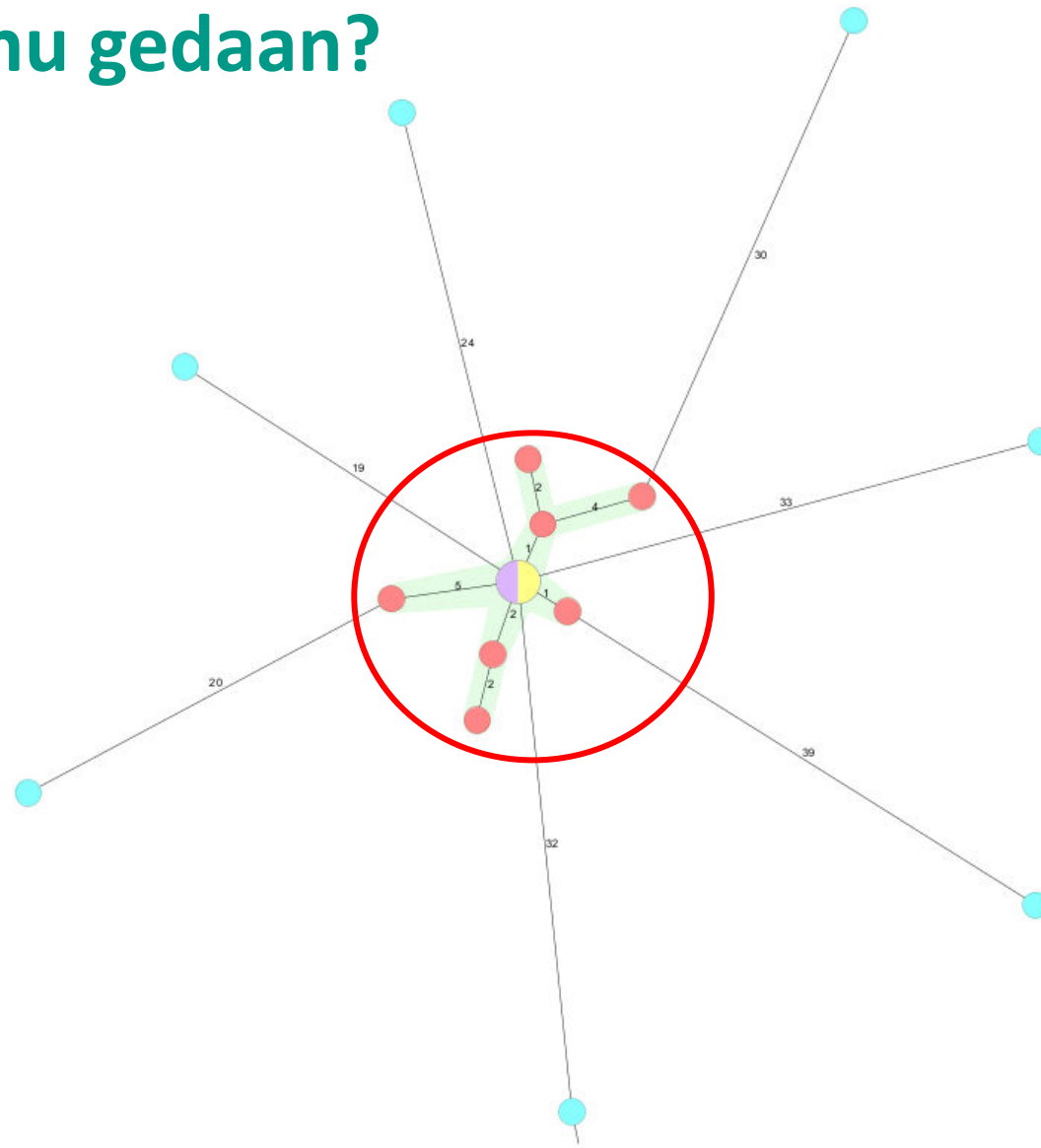
Hoe wordt het nu gedaan?

- Next-Generation Sequencing (**NGS**)
 - Whole Genome Sequencing
 - **DNA** opdelen in puzzelstukjes
 - Sequentie bepalen
 - Digitaal de puzzel leggen
 - Reconstructie bacterieel genoom
- Core genome Multi-locus-sequence typing (**cgMLST**)
 - >1500 genen



3-4-1-11-7-2-21 3-4-1-11-7-2-21 3-4-1-11-7-2-21 3-4-1-11-7-2-21 3-4-1-11-7-2-21 3-4-1-11-7-2-21 4-1-11-7-2-21
ST 51

Hoe wordt het nu gedaan?



Hoe wordt het nu gedaan?



MLST

vs

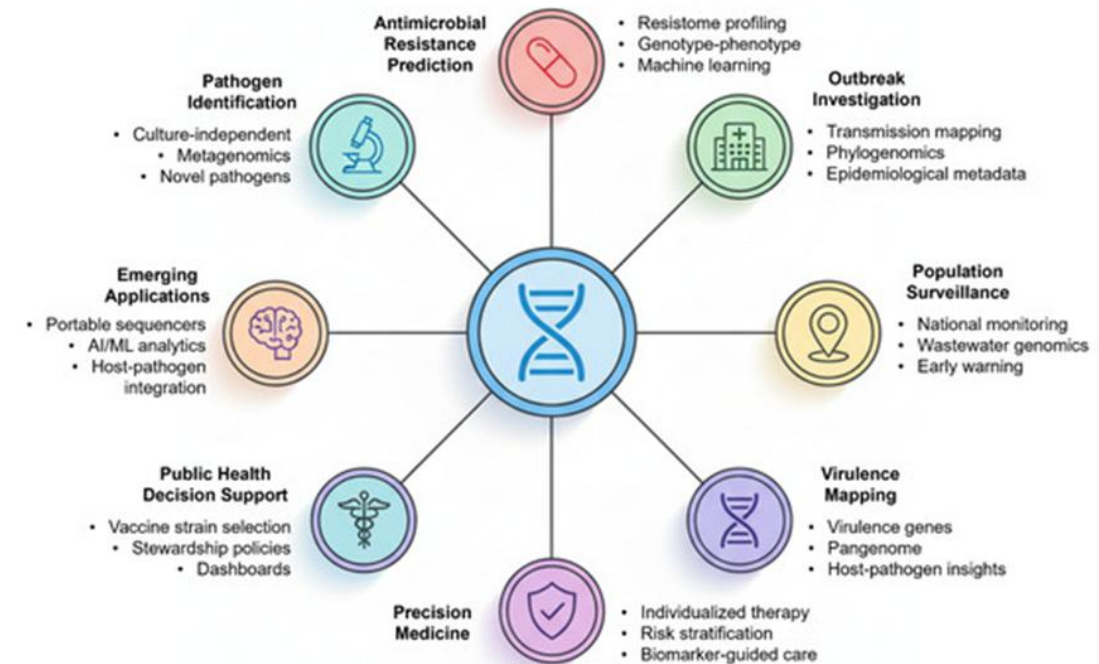


cgMLST

Heilige graal

- Next-Generation Sequencing (**NGS**)
 - Whole Genome Sequencing
 - **DNA** opdelen in puzzelstukjes
 - Sequentie bepalen
 - Digitaal de puzzel leggen
 - Reconstructie bacterieel genoom
- Core genome Multi-locus-sequence typing (**cgMLST**)
 - >1500 genen
 - Maar we hebben nog veel meer informatie
 - Antimicrobiële resistentie genen
 - Virulentie genen
 - Puntmutaties
 - Mobiele elementen
 - Plasmides
 - Transposons
 - Bacteriofagen

Applications of Genome Sequencing in Infectious Diseases



Mobiele elementen

Whole-genome sequencing analysis reveals the spread of a *vanB*-carrying transposon among different vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* clinical isolates in a non-endemic setting

R.H.T. Nijhuis^a  , M.A. Chlebowicz-Fliss^b, A.E. Smilde^c, J.W.A. Rossen^{b d}, A.J.L. Weersink^{a c}, A.C.M. Gigengack-Baars^c

A Comparison of Shiga-Toxin 2 Bacteriophage from Classical Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Serotypes and the German *E. coli* O104:H4 Outbreak Strain

Chad R. Laing^{1,3}, Yongxiang Zhang¹, Matthew W. Gilmour², Vanessa Allen³, Roger Johnson⁴, James E. Thomas⁵, Victor P. J. Gannon^{1*}

A Broad-Host-Range Plasmid Outbreak: Dynamics of IncL/M Plasmids Transferring Carbapenemase Genes

by María Getino^{1,*†} , María López-Díaz^{2,‡}, Nicholas Ellaby² , John Clark³, Matthew J. Ellington² and Roberto M. La Ragione^{1,4,*} 

Real-time genomic epidemiologic investigation of a multispecies plasmid-associated hospital outbreak of NDM-5-producing Enterobacterales infections

Nathan J. Raabe^{1 2 3}, Abby L. Valek⁴, Marissa P. Griffith^{1 2}, Emma Mills², Kady Waggle^{1 2}, Vatsala Rangachar Srinivasa^{1 2 3}, Ashley M. Ayres⁴, Claire Bradford⁴, Hannah M. Creager^{5 6}, Lora L. Pless^{1 2}, Alexander J. Sundermann^{1 2}, Daria Van Tyne², Graham M. Snyder^{2 4}, Lee H. Harrison^{1 2 3}  

Pandora's doos

- NGS bepaalt al het DNA aanwezig in je sample
 - Direct uit patiënten materiaal (**metagenomics**) is misschien wel de heilige graal
 - Scheelt tijd, je hoeft niet eerst te kweken
 - Niet alle bacteriën kunnen gekweekt worden op het lab
 - Je krijgt precies te zien hoe het is
 - Welke **bacteriën**
 - Welke **verhoudingen**
 - Welke **resistentiegenen**
 - Maar bevat ook menselijk DNA
 - 80-99% van alle data is humaan
 - Complexe data analyse
 - Puzzelstukjes van meerdere puzzels door mekaar gemixt



Toekomst (?)

