



Ministerstwo
Zdrowia



NARODOWY
INSTYTUT
ZDROWIA
PUBLICZNEGO
PAŃSTWOWY INSTYTUT
BADAWCZY



Współfinansowane przez
Unię Europejską

Wprowadzenie do genomiki w nadzorze epidemiologicznym

dr n. med. Tomasz Wołkowicz

twolkowicz@pzh.gov.pl

„Towards the National Platform for Genomic Surveillance” PLEpiSeq is co-funded by the European Union and the Ministry of Health of the Republic of Poland. Views and opinions expressed are however those of the author(s) only and do not necessarily reflect those of the European Union or the European Health and Digital Executive Agency. Neither the European Union nor the granting authority can be held responsible for them.

„Towards the National Platform for Genomic Surveillance” PLEpiSeq współfinansowany ze środków Unii Europejskiej oraz Ministerstwa Zdrowia Rzeczypospolitej Polskiej. Wyrażone poglądy i opinie są jednak wyłącznie poglądami autora (autorów) i niekoniecznie odzwierciedlają poglądy Unii Europejskiej lub Europejskiej Agencji Wykonawczej ds. Zdrowia i Cyfryzacji. Unia Europejska ani organ przyznający pomoc nie mogą być za nie pociągnięte do odpowiedzialności.

WGS – sekwencjonowanie kompletnego,
pofragmentowanego genomu
(namnożonego wcześniej, np. hodowla)

Odczyty → contigi

Σ contigów $\approx$ pełny genom

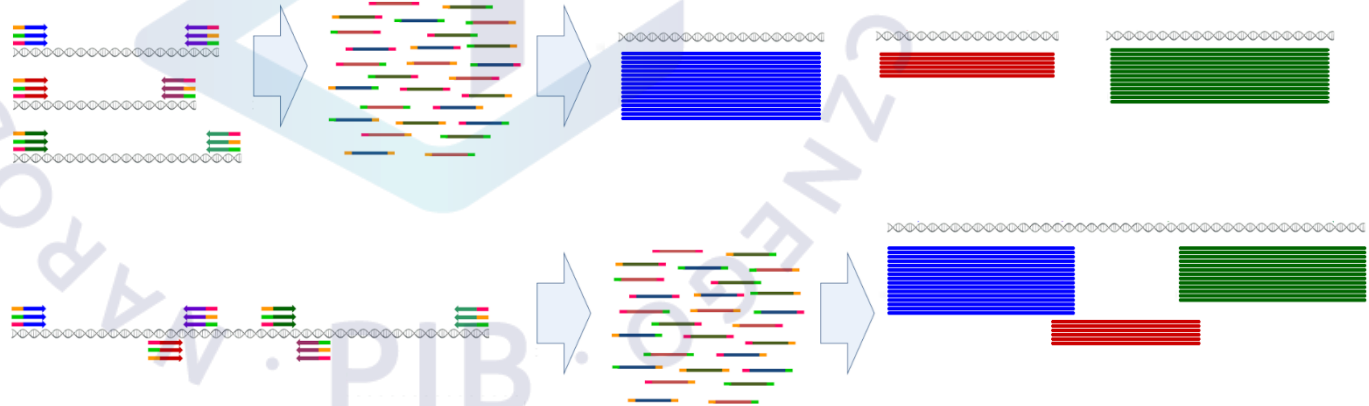


Im krótsze fragmenty tym trudniej poskładać kompletny, domknięty genom
(problem sekwencji repetytywnych)

Sekwencjonowanie ampikonowe

„namnażanie” genomu do sekwencjonowania w reakcjach PCR

Σ fragmentów $\approx \pm$ pełny genom – (flanki + startery)



Genomika w nadzorze epidemiologicznym



- Charakteryzowanie istotnych klinicznie – epidemiologicznie cech patogenu (oporność, wirulencja, poszerzone typowanie)
- Klasteryzacja / filogenetyka – wykrywanie i pogłębiona analiza ognisk

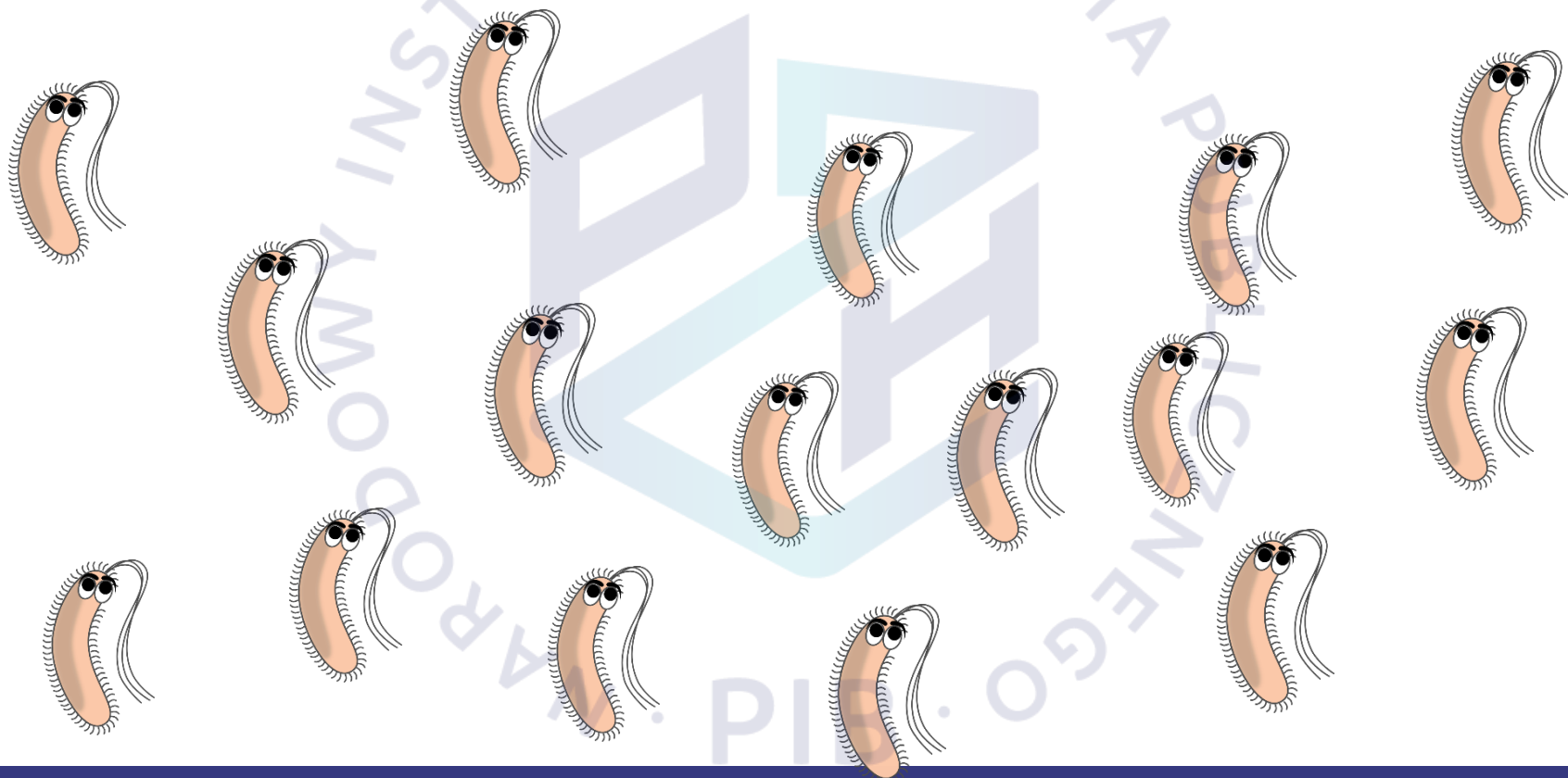
Genomika nie odpowie na **wszystkie** pytania!

Genomika nie odpowie na **niezadane** pytania!

SARS-CoV-2	Wirusy grypy	RSV	Salmonella	Campylobacter	VTEC (E. coli)
Statystyki sekwencjonowania	Statystyki sekwencjonowania	Statystyki sekwencjonowania	Statystyki sekwencjonowania	Statystyki sekwencjonowania	Statystyki sekwencjonowania
Wariant	Typ		Potwierdzenie gatunku	Potwierdzenie gatunku	Potwierdzenie gatunku
Lista kluczowych mutacji	Typ H		Serotyp		Serotyp
Linia PANGO	Typ N		7g MLST	7g MLST	7g MLST
Linia NextClade	Mutacje warunkujące oporność		cgMLST	cgMLST	cgMLST
Clade GISAID			Plazmidy	Plazmidy	Plazmidy
			Geny oporności	Geny oporności	Geny oporności
			Mutacje oporności	Mutacje oporności	Mutacje oporności
					Patotyp
					Najważniejsze geny wirulencji
					Inne geny wirulencji
Klasteryzacja	Klasteryzacja	Klasteryzacja	Klasteryzacja	Klasteryzacja	Klasteryzacja
Filogenetyka	Filogenetyka	Filogenetyka	Filogenetyka	Filogenetyka	Filogenetyka

Czasami wystarczy proste ogólne porównanie izolatów...

	Serotyp	stx	eae	7g MLST	Oporność												
STEC-1	O157:H7	stx2c	g01-gamma	ST-11													
STEC-2	O80:H2	stx2a	e07-xi	ST-301	aadA1	ant(2'')-Ia	aph(3'')-Ib	aph(6)-Id	aph(3')-Ia	blaTEM-1B	floR	catA1	sul1	sul2	tet(A)	dfrA36	gyrA p.S83L





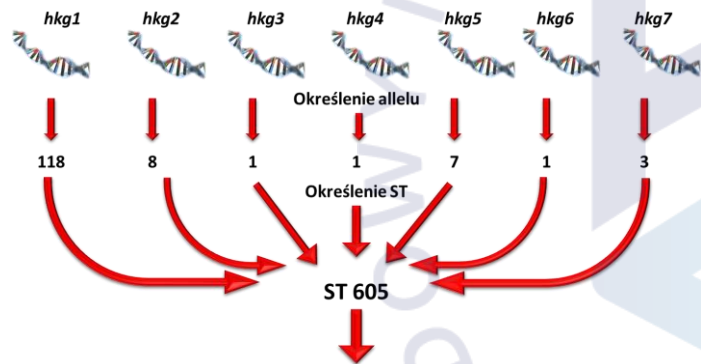


- **SNP**

- **MLST**

- 7 genowe MLST
- cg MLST
- wg MLST
- pg MLST

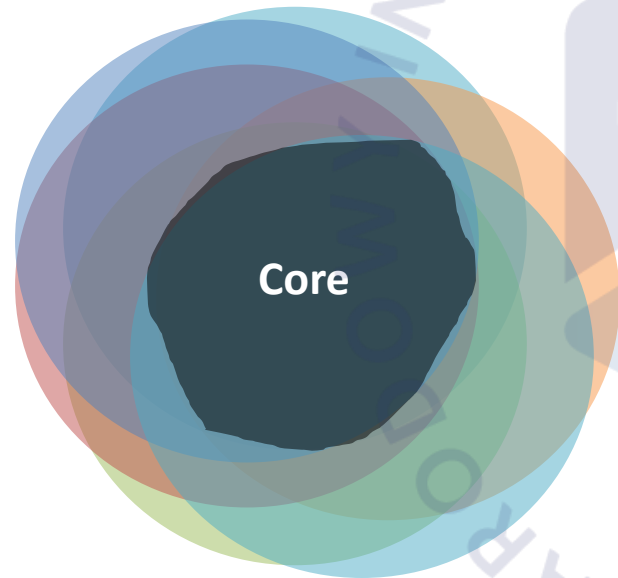
- MLST



- SNP – single nucleotide polymorphism

TGCATTCCGATG-GC...
 TGCATTCTGATG-GC...
 TG GATTCTGATG-GC...
 TG GATTCTGAT - - C...
 TG- ATTCCGATGTGC...
 TGCACTCCGATG-GC...

Core genome / Whole genome / Pan genome



ST	HC0 (indistinguishable)	HC2	HC5	HC10	HC20	HC50	HC100	HC200	HC400	HC900 (ceBG)	HC2000 (Super-lineage)	HC2600	HC2850 (subsp.)
279664	279664	279664	21019	528	528	528	528	528	528	528	528	528	2
279668	279668	279668	279665	528	528	528	528	528	528	528	528	528	2
279665	279665	279665	279665	528	528	528	528	528	528	528	528	528	2
279699	279699	279699	279699	6892	528	528	528	528	528	528	528	528	2
279675	279675	279675	150034	528	528	528	528	528	528	528	528	528	2
279672	279672	279672	279672	528	528	528	528	528	528	528	528	528	2
279667	279667	279667	279665	528	528	528	528	528	528	528	528	528	2
279677	279677	56332	21019	528	528	528	528	528	528	528	528	528	2
279666	279666	279666	279666	528	528	528	528	528	528	528	528	528	2
135180	135180	56332	21019	528	528	528	528	528	528	528	528	528	2
279670	279670	279670	279670	1286	1286	893	893	893	893	893	893	15	2
279669	279669	279669	279669	25094	25094	7570	7570	7570	7570	7570	7570	15	2
279671	279671	279671	279671	528	528	528	528	528	528	528	528	528	2
279673	279673	279673	279665	528	528	528	528	528	528	528	528	528	2
279674	279674	279674	279665	528	528	528	528	528	528	528	528	528	2
279676	279676	279667	279665	528	528	528	528	528	528	528	528	528	2
279674	279674	279667	279665	528	528	528	528	528	528	528	528	528	2
297823	297823	297823	297823	297823	297823	87	87	12	12	12	12	2	2
297824	297824	297824	1680	1680	2	2	2	2	2	2	2	2	2
297825	297825	297825	297825	297825	87	87	87	12	12	12	12	2	2
297826	297826	297826	297826	413	87	87	87	12	12	12	12	2	2
297827	297827	297827	297827	297827	2	2	2	2	2	2	2	2	2
297829	297829	297829	297829	413	87	87	87	12	12	12	12	2	2
283502	283502	2121	1358	413	87	87	87	12	12	12	12	2	2
297828	297828	61234	1358	413	87	87	87	12	12	12	12	2	2
297830	297830	1358	413	87	87	87	87	12	12	12	12	2	2
297831	297831	2301	1398	397	397	12	12	12	12	12	12	2	2
297832	297832	297832	1680	1680	2	2	2	2	2	2	2	2	2
297834	297834	272832	1358	413	87	87	87	12	12	12	12	2	2
297833	297833	1358	413	87	87	87	87	12	12	12	12	2	2
297835	297835	220811	1998	1958	87	87	87	12	12	12	12	2	2
297837	297837	2121	1358	413	87	87	87	12	12	12	12	2	2
297841	297841	297841	1358	413	87	87	87	12	12	12	12	2	2
297836	297836	297836	297836	297836	7264	36	36	36	36	36	36	2	2
61234	61234	61234	1358	413	87	87	87	12	12	12	12	2	2
297840	297840	297840	285039	1545	397	397	12	12	12	12	12	2	2
297838	297838	297838	240353	413	87	87	87	12	12	12	12	2	2
297839	297839	297839	297839	297839	2	2	2	2	2	2	2	2	2
297842	297842	413	413	413	87	87	87	12	12	12	12	2	2
297848	297848	232284	1358	413	87	87	87	12	12	12	12	2	2
297844	297844	1358	1358	413	87	87	87	12	12	12	12	2	2
297843	297843	240353	240353	413	87	87	87	12	12	12	12	2	2
297851	297851	1358	1358	413	87	87	87	12	12	12	12	2	2

European outbreak case definitions

Cluster 1

Two representative UK isolates are publicly available in the European Bioinformatics Institute/European Nucleotide Archive (EBI/ENA) with accession numbers SRR17830210 and SRR18021617. These represent isolates in cluster 1 (C1), which are part of Enterobase cgMLST hierarchical cluster designation HC5_296366 ([1,2]).

A confirmed outbreak case in cluster 1

A laboratory-confirmed monophasic *Salmonella* Typhimurium case with symptom onset on or after 1 October 2021 (date of sampling or date of receipt by the reference laboratory if date of onset is not available).

AND

Fulfilling at least one of the following laboratory criteria for cluster 1: a monophasic *S. Typhimurium* ST34 isolate:

- clustering with any of the representative outbreak isolates by the national cgMLST pipeline within five allelic differences (AD); OR
- clustering in a centralised whole genome sequencing (WGS) analysis within five ADs in a single linkage analysis; OR
- belonging to the cgMLST HC5_296366 according to the Enterobase scheme; OR
- falling into the 5-SNP (single nucleotide polymorphism) single linkage cluster 1.1.1.124.6096.7575.% (t5.7575) (eburst group 1), according to the UKHSA pipeline; OR
- clustering according to a national SNP pipeline within five SNPs.

5 SNP / 5 cg AD

European outbreak case definition for *Shigella sonnei*

The European outbreak case definition is as follows:

A confirmed outbreak case:

- A laboratory-confirmed *Shigella sonnei* case with gastrointestinal symptoms on or after 1 November 2021 (date of sampling or date of receipt by the reference laboratory if date of onset is not available).
- AND
- Fulfilling at least one of the following laboratory criteria:
 - clustering by the national cgMLST pipeline within eight cg-allelic differences (AD) from the representative Dutch outbreak strain, OR
 - clustering in a centralised whole genome sequencing (WGS) analysis within eight cg-allelic differences in a single linkage analysis, OR
 - belonging to the same cgMLST HC5_181425 cluster (Enterobase scheme), OR
 - belonging to a 10-SNP single linkage cluster with SNP designation 1.3.496.1102.2052.% (t10.2052) according to the UK Health Security Agency pipeline in the UK.

10 SNP / 8 cg AD

Pułapki analiz WGS

Salmonella Enteritidis HC2 1358

- 100 izolatów z PL
- 840 izolatów w Enterobase
- od 2010 – obecnie

Ognisko???

Workspace:None Rows Total:840 Filtered:100

Collection Date	Location	Serovar	Antigenic F...	Release Da...	ST	HC0 (indist...	HC2	HC5	HC10
2014	Poland	Enteritidis		2025-01-11	7683	7683	1358	1358	413
2015	Poland	Enteritidis		2025-01-11	511047	511047	1358	1358	413
2015	Poland	Enteritidis		2025-01-11	7683	7683	1358	1358	413
2015	Poland	Enteritidis		2025-01-10	511151	511151	1358	1358	413
2016	Poland	Enteritidis		2025-01-10	7683	7683	1358	1358	413
2017	Poland	Enteritidis		2025-01-11	511008	511008	1358	1358	413
2017	Poland	Enteritidis		2025-01-11	71283	71283	1358	1358	413
2018	Poland	Enteritidis		2025-01-11	511002	511002	1358	1358	413
2018	Poland	Enteritidis		2025-01-10	511092	511092	1358	1358	413
2018	Poland	Enteritidis		2025-01-10	112279	112279	1358	1358	413
2018	Poland	Enteritidis		2025-01-10	511201	511201	1358	1358	413
2019	Poland	Enteritidis		2025-01-11	112279	112279	1358	1358	413
2019	Poland	Enteritidis		2025-01-10	197190	197190	1358	1358	413
2019	Poland	Enteritidis		2023-03-18	299744	299744	1358	1358	413
2019	Poland	Enteritidis		2023-03-18	299758	299758	1358	1358	413
2019	Poland	Enteritidis		2023-03-13	299416	299416	1358	1358	413
2019	Poland	Enteritidis		2023-03-13	299422	299422	1358	1358	413
2020	Poland	Enteritidis		2025-01-11	511040	511040	1358	1358	413
2020	Poland	Enteritidis		2025-01-10	7683	7683	1358	1358	413
2020	Poland	Enteritidis		2025-01-10	511173	7683	1358	1358	413
2023	Poland	Enteritidis		2024-11-17	370252	370252	1358	1358	413
2023	Poland	Enteritidis		2024-08-25	370252	370252	1358	1358	413
2023	Poland	Enteritidis		2024-08-25	370259	370259	1358	1358	413
2024	Poland	Enteritidis		2026-02-04	507551	507551	1358	1358	413
1/10/2022	Poland	Enteritidis		2024-07-29	366448	366448	1358	1358	413
1/10/2023	Poland	Enteritidis		2026-02-04	507454	507454	1358	1358	413
1/8/2022	Poland	Enteritidis		2024-06-17	362229	362229	1358	1358	413
1/1/2021	Poland	Enteritidis		2026-02-04	507440	507440	1358	1358	413

Pułapki analiz WGS

Name	Coverage	O Antigen	H Antigen	SNP (z 17)	SNP (bez 17)	SNP (tylko O80)	HC0	HC2	HC5
NIZP_EQA_23_01	57,6	O26	H11	16398	16536	-	254937	202927	202927
NIZP_EQA_23_02	52,4	O8	H4	15598	15726	-	251028	251028	251028
NIZP_EQA_23_03	42,8	O128	H2	16618	16745	-	84508	84508	84508
NIZP_EQA_23_04	41,9	O146	H28	31731	31957	-	254780	254780	254780
NIZP_EQA_23_05	45,7	O145	uncertain	21156	21334	-	84516	84516	84516
NIZP_EQA_23_06	39,3	O80	H2	0	0	0	36540	36540	36540
NIZP_EQA_23_07	48,6	O80	H2	29	29	127	254784	254784	254784
NIZP_EQA_23_08	65,5	O80	H2	0	0	0	36540	36540	36540
NIZP_EQA_23_09	55,3	O154	H31	21266	21424	-	84512	84512	84512
NIZP_EQA_23_10	52,1	O157	H7	22119	22299	-	254936	100049	100049
NIZP_EQA_23_11	39,7	O111	H21	16519	16638	-	254782	254782	254782
NIZP_EQA_23_12	42,8	O103	H2	16450	16576	-	254935	254935	94839
NIZP_EQA_23_13	106,8	80	2	29	30	111	254940	254940	254940
NIZP_EQA_23_14	70,5	80	2	0	0	0	36540	36540	36540
NIZP_EQA_23_15	100	80	2	-	-	-	254942	36540	36540
NIZP_EQA_23_16	100,4	80	2	30	31	98	254941	254941	254941
NIZP_EQA_23_17	R2 - PHREDScore =4	80	2	28	-	-			
NIZP_EQA_23_18	15,5	80	2	-	-	-			
NIZP_EQA_23_19	59,5	80	2	0	0	0	254939	254939	36540
NIZP_EQA_23_20	74,9	80	2	0	0	8	36540	36540	36540

Dziękuję za uwagę 😊

„Towards the National Platform for Genomic Surveillance” PLEpiSeq is co-funded by the European Union and the Ministry of Health of the Republic of Poland.
Views and opinions expressed are however those of the author(s) only and do not necessarily reflect those of the European Union or the European Health and Digital Executive Agency. Neither the European Union nor the granting authority can be held responsible for them.

„Towards the National Platform for Genomic Surveillance” PLEpiSeq współfinansowany ze środków Unii Europejskiej oraz Ministerstwa Zdrowia Rzeczypospolitej Polskiej.
Wyrażone poglądy i opinie są jednak wyłącznie poglądami autora (autorów) i niekoniecznie odzwierciedlają poglądy Unii Europejskiej lub Europejskiej Agencji Wykonawczej ds. Zdrowia i Cyfryzacji. Unia Europejska ani organ przyznający pomoc nie mogą być za nie pociągnięte do odpowiedzialności.