

Fuldgenomsekventering af mikroorganismer: et nyt værktøj i klinisk mikrobiologi

Mette Damkjær Bartels, Xiaohui C. Nielsen, Jens Jørgen Christensen & Henrik Westh

STATUSARTIKEL

Dansk Selskab for
Klinisk Mikrobiologi

Molekylær diagnostik har længe været anvendt i klinisk mikrobiologi. *Polymerase chain reaction* (PCR) til påvisning af specifikke gener, mikroorganismer samt efterfølgende sekventering (bestemmelse af baserækkefølgen) af enkeltgener ved Sangers metode [1] er hyppigt brugt.

Inden for de seneste år har fuldgenomsekventering (WGS) gjort det muligt at sekventere mikroorganismers fulde genom (flere millioner basepar) på få dage og til en overkommelig pris.

Bioinformatikredskaber gør det muligt at udføre fylogenetisk analyse på forskellige niveauer: på enkelte gener, på multiple loci eller på hele genomet.

WGS af bakterier kan bruges til at afgøre, om bakterieisolater, der fænotypisk er ens, også er genotypisk ens. Dette vil bidrage til bedre forståelse af bakteriers evolution, transmission og patogenese [1, 2].

Antallet af multiresistente bakterier er i stigning [3]. Ved mistanke om hospitalsudbrud er WGS en hurtig og præcis metode, der kan guide infektionshygiejniske tiltag og dermed afgrænse udbrud. I Region Hovedstaden har man siden januar 2013 lavet WGS på alle methicillinresistente *Staphylococcus aureus* (MRSA)-stammer. Sekvenser af staphylococcusprotein A (*spa*)-genet og andre relevante gener bestemmes, og isolaterne sammenlignes i fylogenetiske træer. Som eksempel ses i figuren, at svine-MRSA-isolater i Region Hovedstaden med samme *spa*-type kun er nært beslægtede ved husstandsmitte og derfor formentlig importeret fra andre dele af Danmark, hvor bakterien er mere almindelig. Aktuelt bliver en ny hospitalsbakterie i Danmark, vancomycinresistente enterokokker, undersøgt ved WGS. De fylogenetiske træer viser her flere forskellige, men samtidige udbrud.

WGS af mikroorganismer vil få tiltagende betydning inden for klinisk mikrobiologi. Udvikling i både sekventering og bioinformatik vil muliggøre anvendelse af WGS direkte på patientprøver, hvilket vil føre til kortere svartid. Nogle af de fremtidige anvendelsesområder vil være:

- 1) præcis identifikation og typning af kliniske stammer og udbrudsstammer,
- 2) identifikation af unikke gener for hurtig udvikling af diagnostiske metoder,
- 3) karakterisering af mikroorganismers egenskaber, såsom resistens og virulens, og

4) *metagenomics*, hvor al DNA i en patientprøve sekventeres, og alle mikroorganismer (mikrobiom) identificeres.

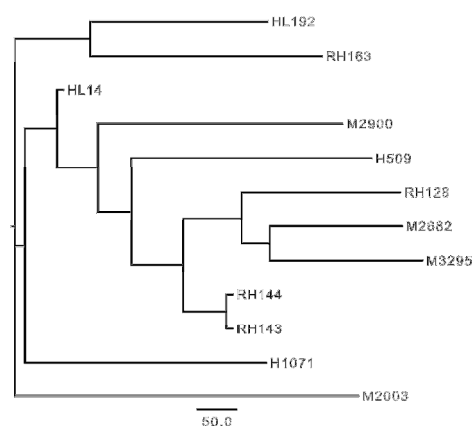
Ved dette håber vi at finde association mellem bestemte sygdomme og mikrobiomets sammensætning.

KORRESPONDANCE: Mette Damkjær Bartels, Klinisk Mikrobiologisk Afdeling 445, Hvidovre Hospital, Kettegaard Allé 30, 2650 Hvidovre.
E-mail: mette.damkjaer@dadlnet.dk

INTERESSEKONFLIKTER: Forfatterens ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på Ugeskriftet.dk

LITTERATUR

1. Reuter S, Ellington MJ, Cartwright EJ et al. Rapid bacterial whole genome sequencing to enhance diagnostic and public health microbiology. *JAMA Intern Med* 2013;173:1397-404.
2. Koser CU, Holden MT, Ellington MJ et al. Rapid whole-genome sequencing for investigation of a neonatal MRSA outbreak. *N Engl J Med* 2012;366:2267-75.
3. www.danmap.org. Rapport 2012.



Fylogenetisk træ indeholdende svine-MRSA-isolater fra patienter i Region Hovedstaden, alle med *spa*-type t011. Isolaterne er fuldgenomsekventeret, og sekvenserne er sammenlignet med et referencegenom for at bestemme gener, der er til stede i alle isolater. Enkelte basemutationer (*single nucleotide polymorphisms* (SNPs)) i forhold til referencegenomet i disse fælles gener er gjort op. Direkte beslægtede isolater har mindre end 10 SNPs mellem sig. I figuren er to identiske isolater (RH143 og RH144) fra to personer i samme husstand. De øvrige isolater indeholder mellem 318 og 1.609 SNPs og er derfor ikke relaterede. Fylogenetiske træer baseret på WGS kan adskille isolater med samme *spa*-type fra hinanden.