ELIKAGAIEN SEGURTASUNAREN ARLOKO IKERKETA KOORDINATZEKO PLANA 2017-2020

PLAN DE COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SEGURIDAD ALIMENTARIA DE LA CAPV 2017-2020

CENTRO CARLOS SANTAMARÍA ZENTROA
GIPUZKOAKO CAMPUSA, UPV/EHU
DONOSTIA

2019 MARTXOAK MARZO 14

ELIKAGAIEN SEGURTASUN ARLOKO IKERKETA EMAITZAK TRANSFERITZEKO VI JARDUNALDIA
VI JORNADA TRANSFERENCIA RESULTADOS DE INVESTIGACIÓN EN SEGURIDAD ALIMENTARIA

Secuenciación de Genoma Completo en la vigilancia epidemiológica de enfermedades transmitidas por alimentos

INNUENDO

Prof. Javier Garaizar
Dpto. Inmunología, Microbiología y Parasitología
F. Farmacia
UPV/EHU

Figura 27. Evolución infecciones gastrointestinales. Salmonella.
SIMCAPV 2000-2017

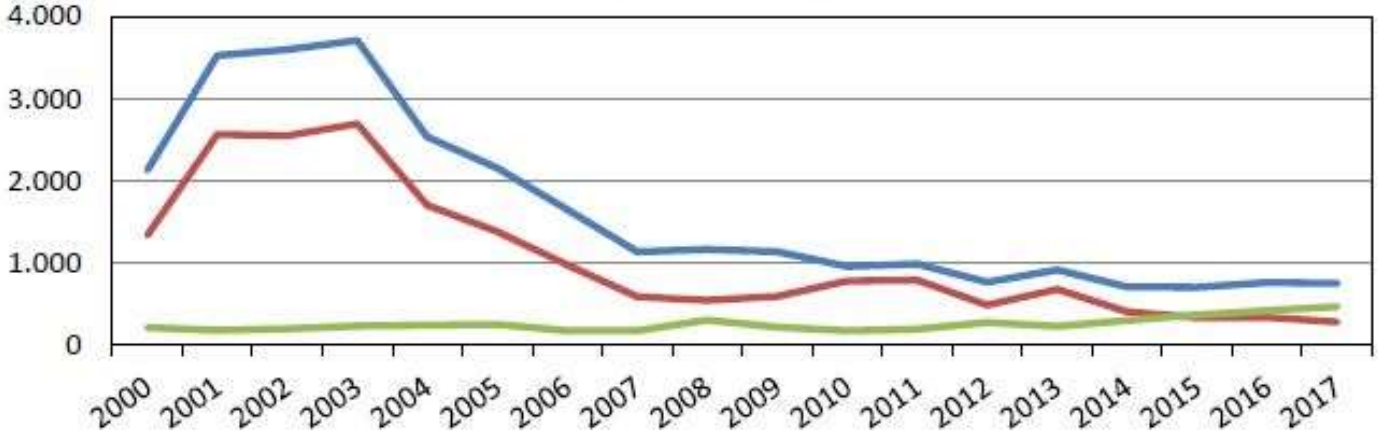


Figura 29. Evolución infecciones gastrointestinales. Campylobacter.
SIMCAPV 2000-2017

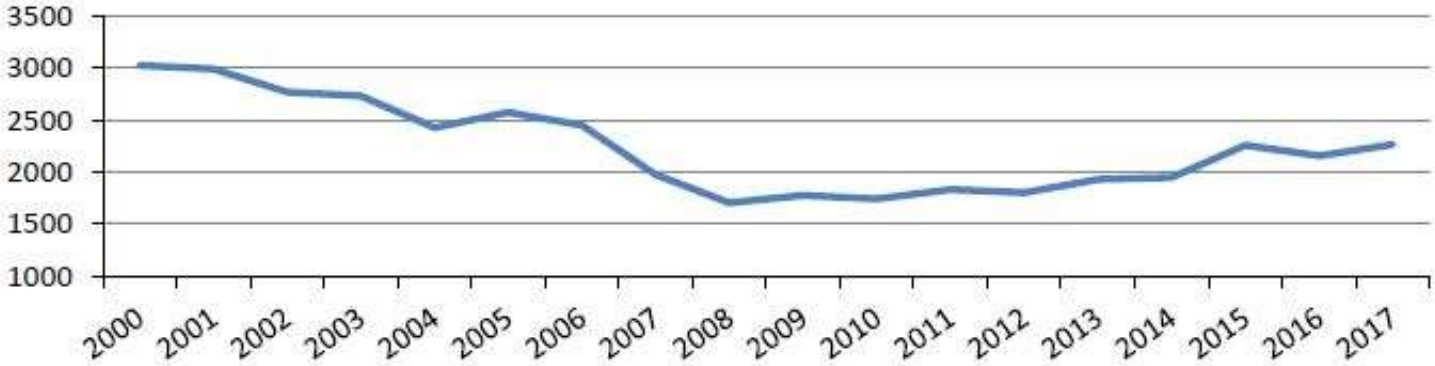
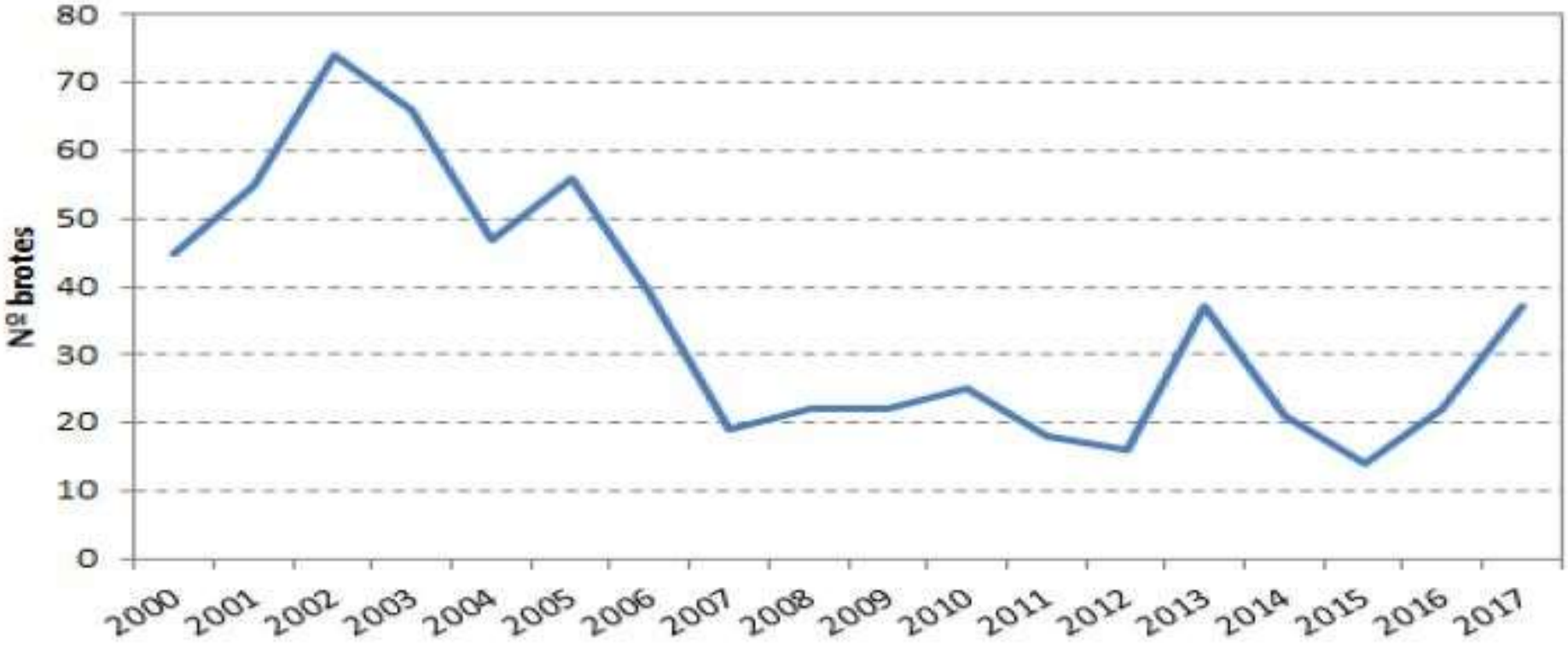


Figura 47. Brotes de toxiinfecciones alimentarias. CAPV, 2000-2017



Informe 2017. Salud Pública y adicciones. EJ/GV

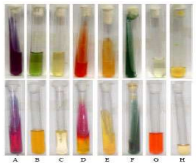
PREGUNTAS RELEVANTES FRENTE A UN BROTE EPIDEMICO DE ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS

- ¿Qué clon bacteriano es este?
- ¿Se ha detectado previamente?
- ¿Es virulento para el ser humano o los animales?
- ¿Es resistente a los antibióticos?
- ¿Estamos frente a una epidemia?

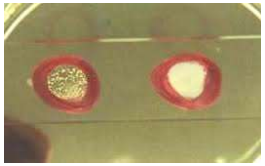
Adaptado de Dallman PHE en: FAO, Expert workshop on practical applications of Whole Genome Sequencing (WGS) for food safety management, 7 Dic 2015

Caracterización epidemiológica microbiana
Métodos fenotípicos y genotípicos

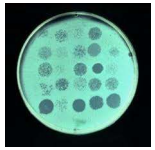
1. Biotipificación



2. Serotipificación

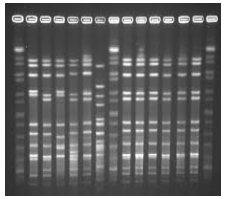


3. Fagotipificación

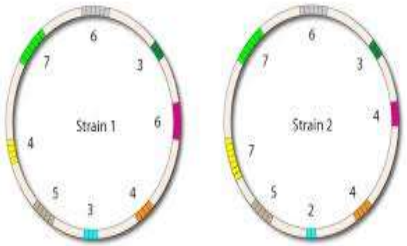


4. Perfil de resistencia a antimicrobianos

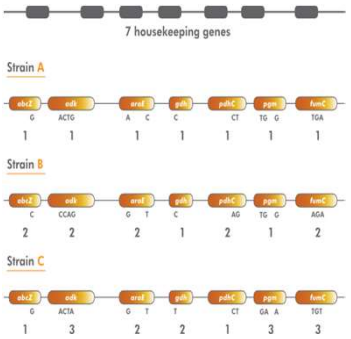
5. Electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE)



6. Análisis multilocus de repeticiones en tándem de número variable (MLVA)



7. Tipificación mediante secuencias multilocus (MLST)

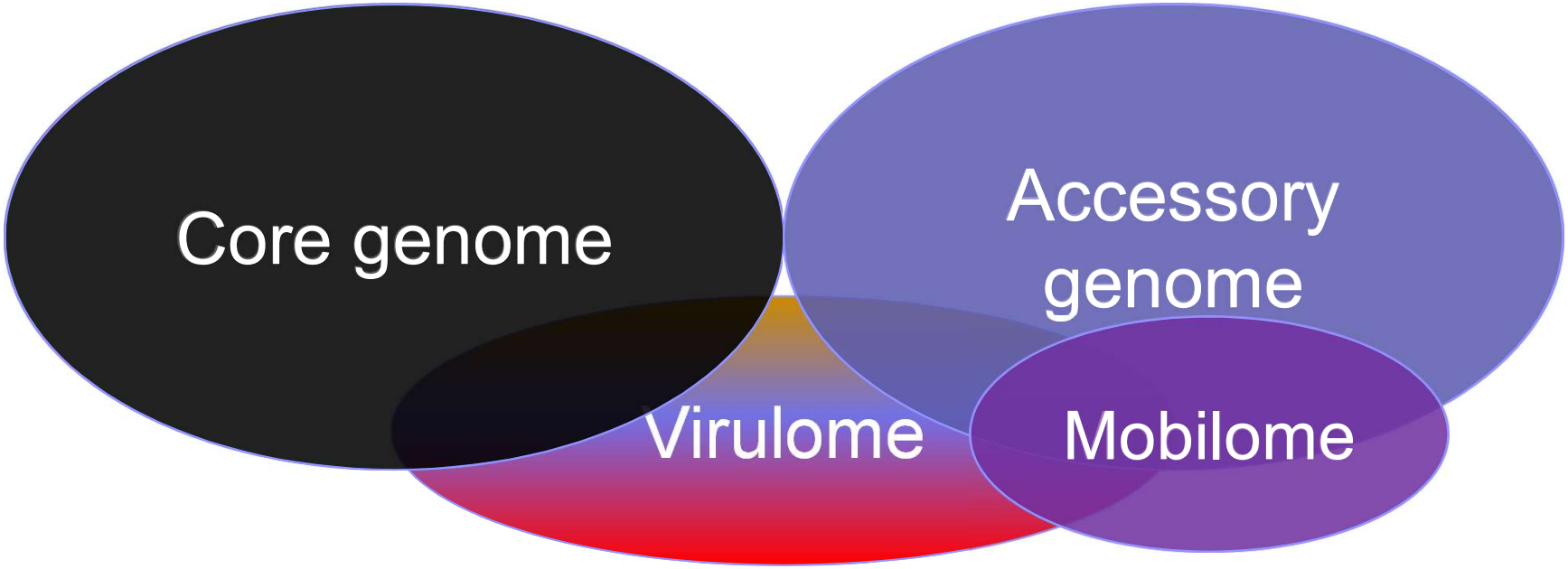


SECUENCIACIÓN DEL ADN EN TIPIFICACIÓN

- Secuenciación de fragmentos obtenidos mediante PCR (MLVA, MLST)
- Secuenciación del genoma completo WGS ➔ ¿**Método de tipificación definitivo?**

  •cgMLST (variantes alélicas gen-a-gen)
  •SNP (mutaciones puntuales, delecciones, inserciones y otros eventos genéticos)

Whole Genome Sequencing



WGS en tipificación

- Información disponible en crecimiento exponencial:
  - >250.000 genomas secuenciados. Múltiples cepas de la misma especie: >100.000 cepas de *Salmonella*
- Bases de datos: NCBI, Enterobase, Genome Trackr Network, Pathogen detection, Global Microbial Identifier,...
- Calidad de las secuencias: Secuenciación Illumina
- Necesidad de herramientas bioinformáticas comparativas: **amigables y de código abierto**
- Coste y rapidez en la obtención del resultado

Ventajas de la WGS

- Mayor discriminación que otras técnicas
- Mas brotes epidémicos detectados
- Predicción de la resistencia antibiótica
- Detección de clones hipervirulentos
- Coste similar a la suma de otras técnicas
- Rapidez similar a otras técnicas

Sequencing Costs are *still* decreasing

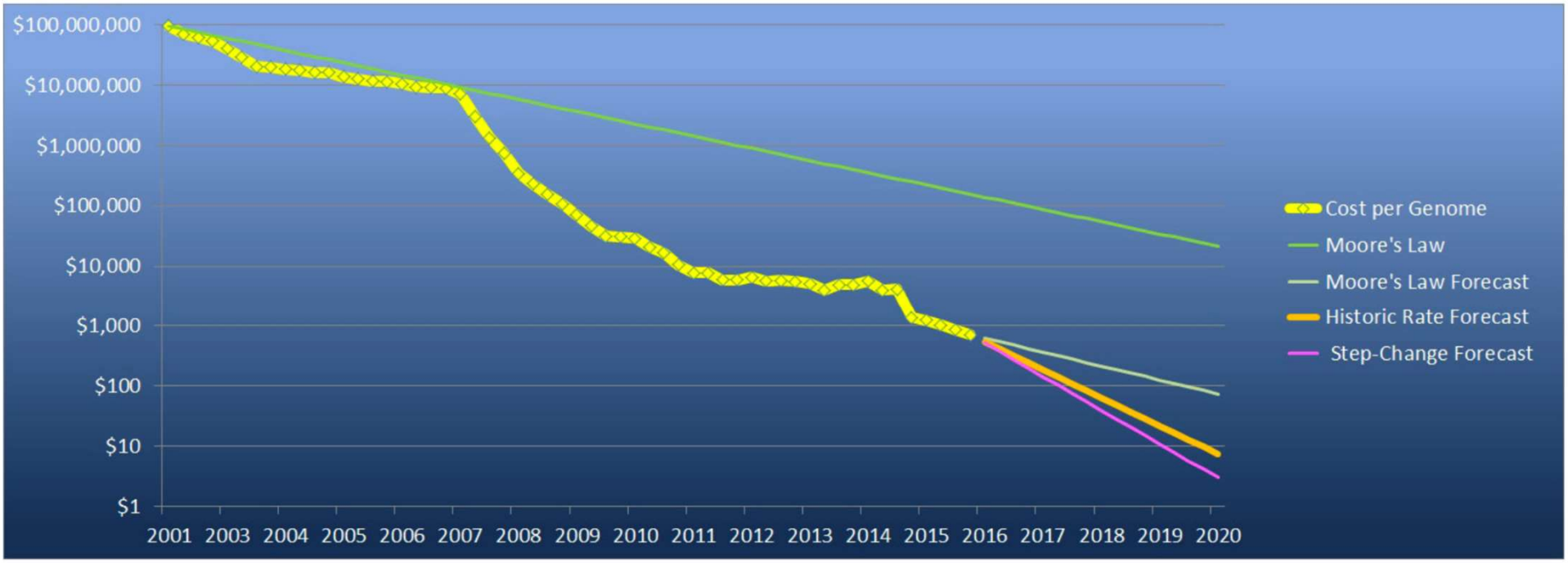


Figure 1: Human Genome Sequencing Costs. Data Source: NHGRI Genome Sequencing Program (GSP)

https://insidehpc.com/2016/11/enabling-personalized-medicine-through-genomic-workflow-acceleration/

Coste por cepa: 50-100€

How long does it take?

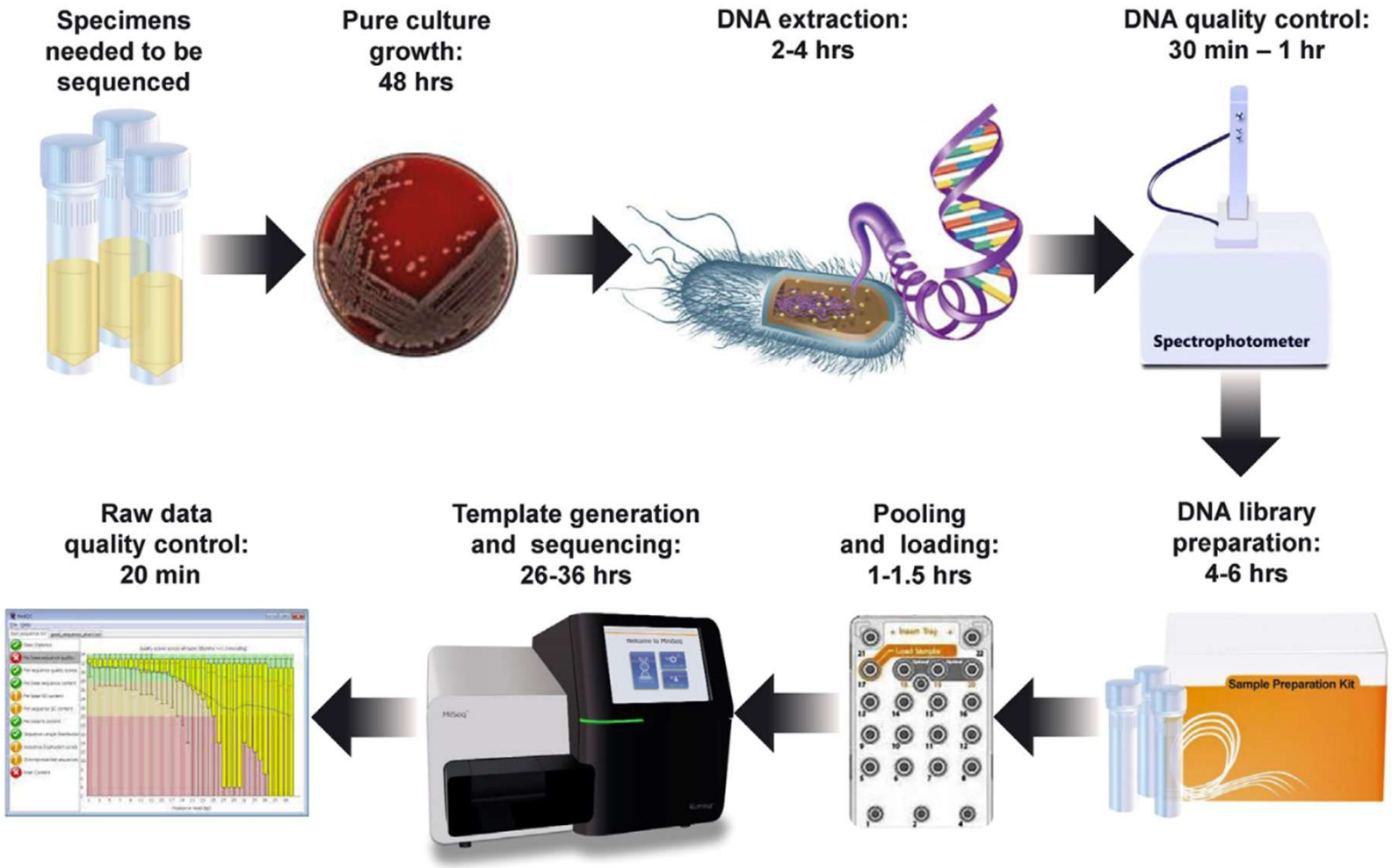
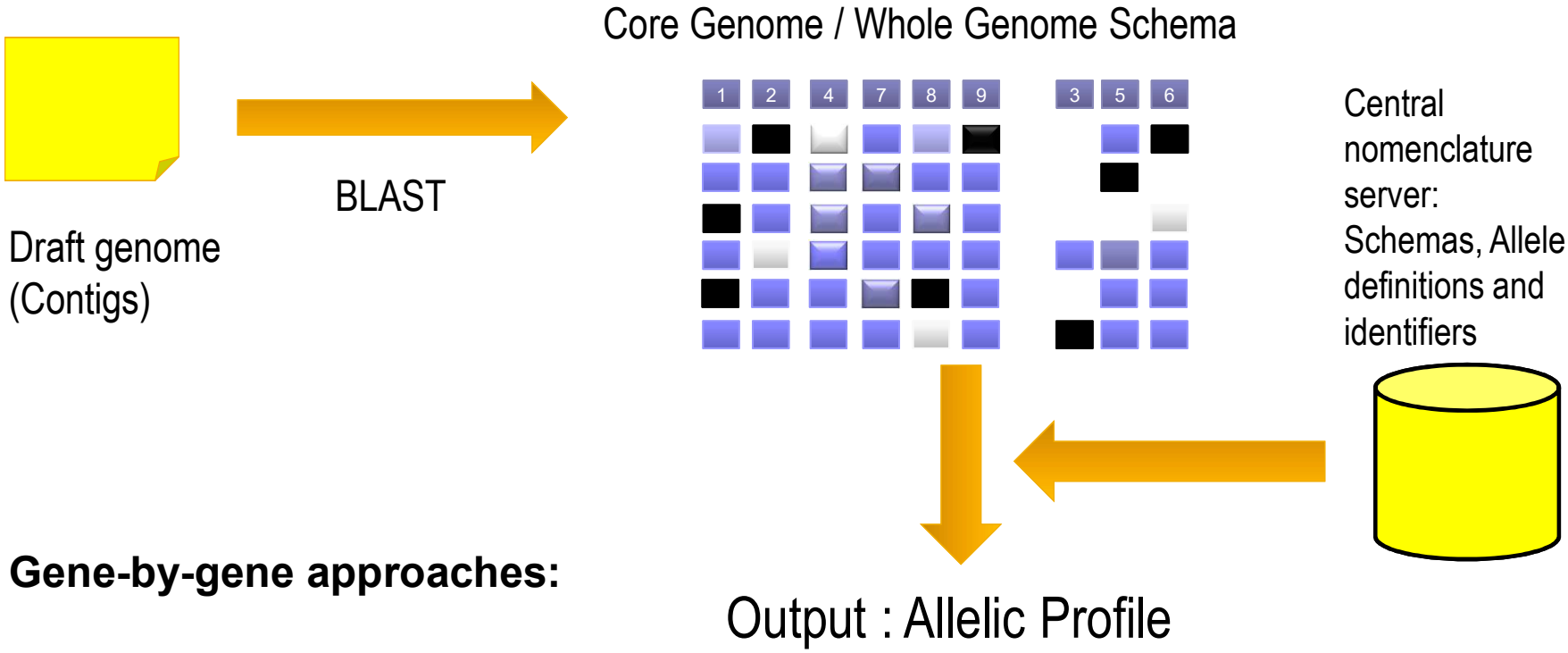


Fig. 2. Typical whole genome sequencing workflow in a clinical or public health laboratory.

cgMLST Gene-by-gene approaches

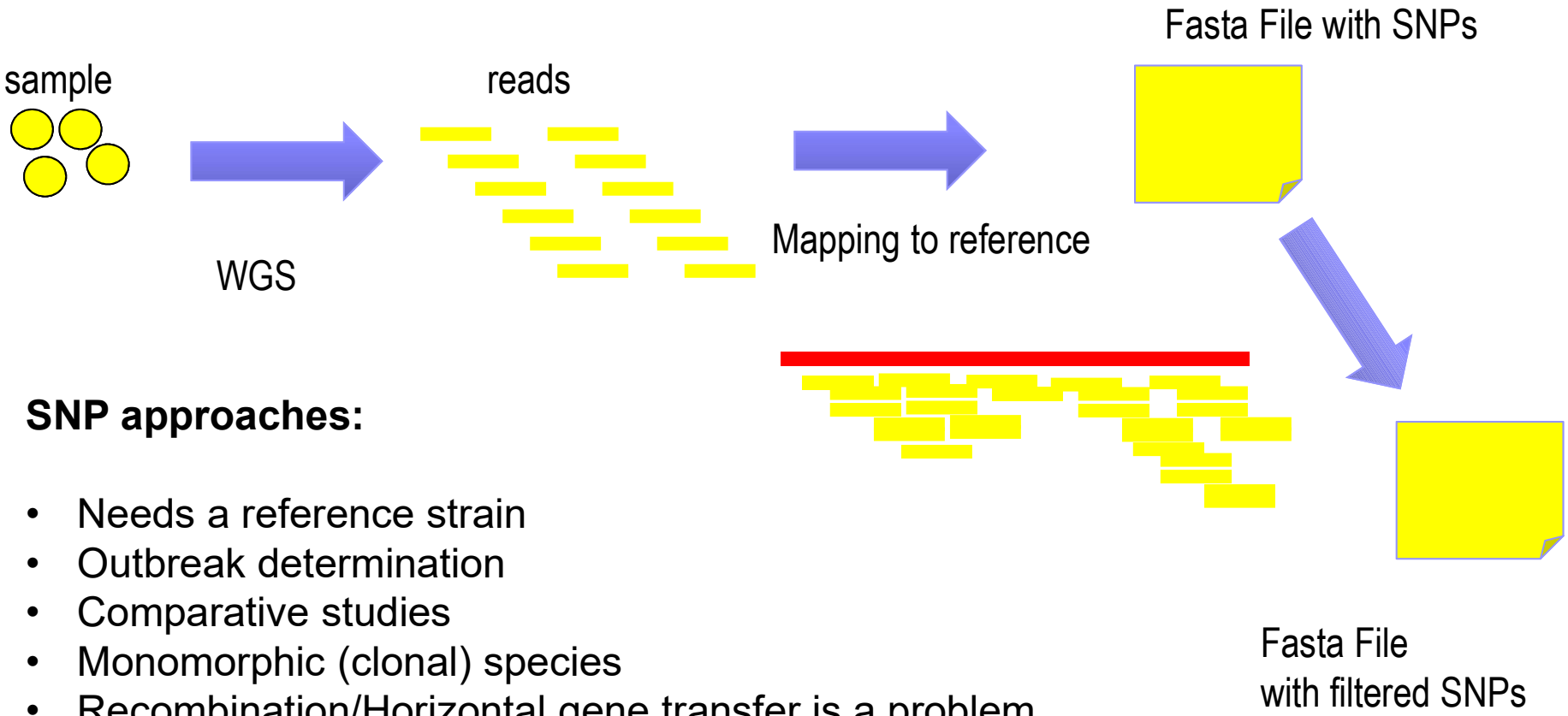


Gene-by-gene approaches:

- No need for reference strain
- Buffers recombination effect
- Simpler to create a nomenclature
- Population structure of non-monomorphic species
- Whole Genome / Core Genome MLST

From: **University of Lisbon (PT)**
Dr. Joao Carrico

SNP approaches



SNP approaches:

- Needs a reference strain
- Outbreak determination
- Comparative studies
- Monomorphic (clonal) species
- Recombination/Horizontal gene transfer is a problem
- Difficult to create a nomenclature
- Can be used for quick target finding

From: **University of Lisbon (PT)**
Dr. Joao Carrico

European Food Safety Authority (EFSA), grant agreement GP/EFSA/AFSCO/2015/01/CT2 ('New approaches in identifying and characterizing microbial and chemical hazards').

INNUENDO

Search this site

Project definition | The Team | News and Events | Links | Innuendo Sequence DataBase | Teaching | Publications | Contact

Disclaimer

The conclusions, findings, and opinions expressed in this website reflect only the view of the INNUENDO consortium members and not the official position of the European Food Safety Authority nor of the Government of the Basque Country that are not responsible for any use that may be made of the information they contain.

Innuendo Wiki

Please click on the link for logging into the private

A novel cross-sectorial platform for the integration of genomics in surveillance of foodborne pathogens

Multinational outbreaks of foodborne pathogens cause considerable threats to European public health. Implementing whole genome sequencing (WGS) in routine surveillance and outbreak investigations is becoming a strategic goal for many public health authorities all over the world. With this in mind we developed the initiative INNUENDO, which aims to deliver a cross-sectorial framework for the integration of bacterial WGS in routine surveillance and epidemiologic investigations.

Who is involved?

University Helsinki (Finland)
Dr. Mirko Rossi
Prof. Maria Fredriksson-Ahomaa
Dr. Riikka Laukkanen-Ninios
Dr. Mari Nevas
Dr. Janne Lunden
Dr. Ann-Katrin Llarena
MSc student Yucel Nalbantoglu
Federica Palma

AGES (Austria)
Christian Kornschober

Public Health Agency (Canada)
Eduardo Taboada, Dillon Barker

INSA (Portugal)
Dr. Monica Oleastro
Dr. Vitor Borges

University of Veterinary Medicine (Austria)
Prof. Friederike Hilbert

University of Lisbon (PT)
Dr. Joao Carrico
PhD student Miguel Machado
PhD student Bruno Goncalves
PhD student Mickael Silva

University of the Basque Country (ES)
Prof. Javier Garaizar
Dr. Joseba Bikandi
Prof. Aitor Rementeria
Dr. Rosario San Millan
Dr. Ilargi Martinez
Prof. Marian Martinez

EVIRA (Finland)
Dr. Marjaana Hakkinen
PhD student Anniina Jaakkonen

THL (Finland)
Dr. Saara Salmenllinna
PhD student Jani Halkilahti

The **INNUENDO** consortium
www.innuendoweb.org

OBJETIVOS DEL PROYECTO

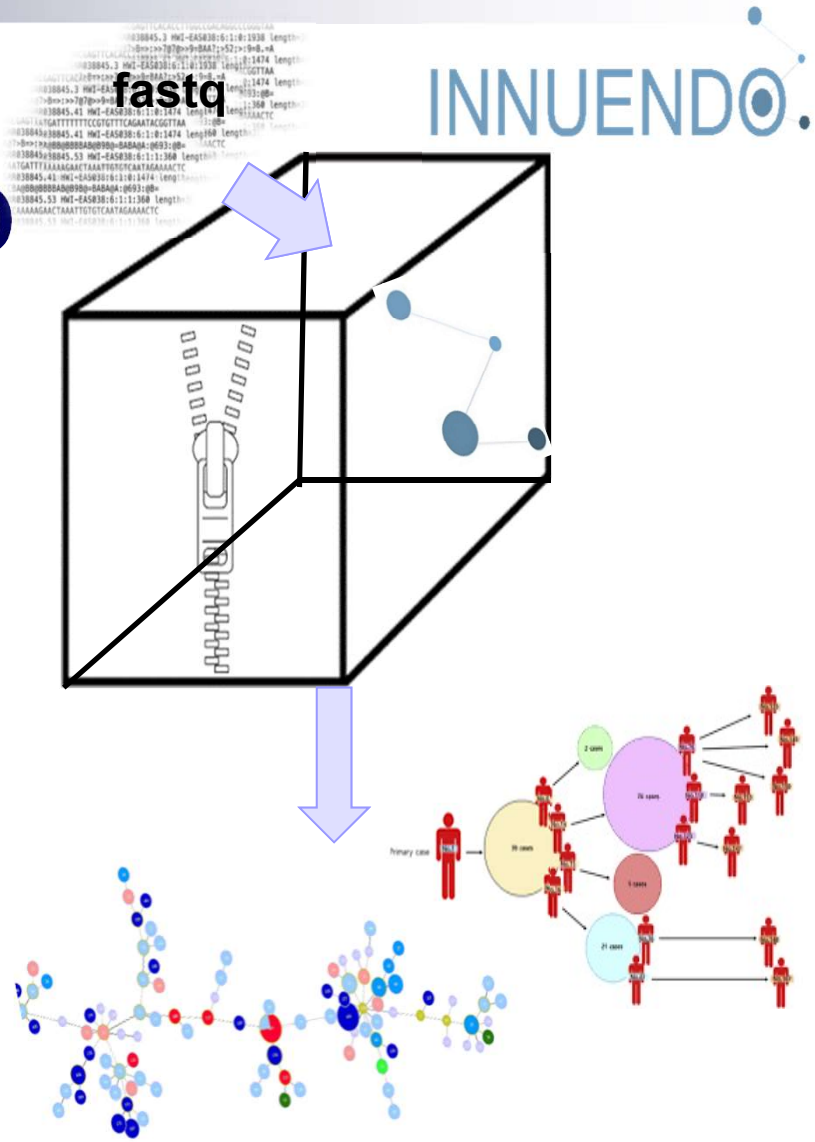
- La mayoría de los grandes laboratorios (CDC, FDA, ECDC, Public Health England, Institute Pasteur,…) tienen previsto la utilización de las técnicas de **WGS** como ***ÚNICO*** método de caracterización microbiana para el estudio epidemiológico:
  - -Menor coste, mayor rapidez, mayor detección de brotes

- Las principales dificultades para lograr este objetivo son técnicas y radican en:
  - -Falta de software no comercial para el análisis de datos
  - -Falta de formación en bioinformática
  - -Falta de consenso y validación de las técnicas

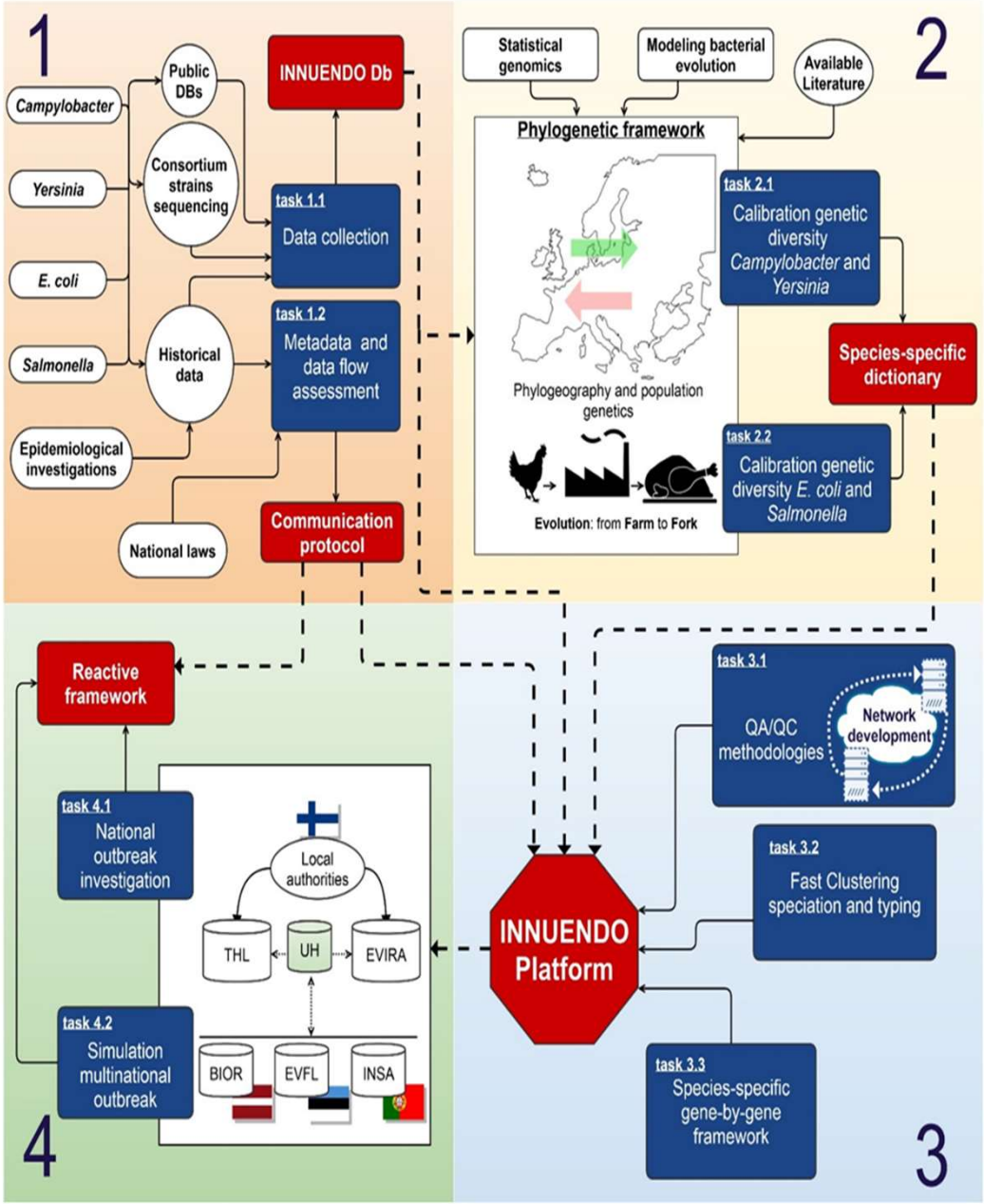
OBJETIVOS INNUENDO

- Desarrollo de una plataforma informática de fácil acceso y de código abierto (*open source*), que permita:
  - Analizar la calidad de la secuenciación
  - Desarrollar la técnica WGS-cgMLST
  - Representar gráficamente los resultados de la genotipificación en brotes epidémicos y en vigilancia epidemiológica

❑ Usuarios finales
- Laboratorios de referencia
- Pequeños laboratorios



Resultados de alta calidad para el estudio epidemiológico



INNUENDO

- **WP 1** → Construcción de la base de datos
- **WP 2** → Calibración de la biodiversidad genética
- **WP 3** → Desarrollo de los programas y la plataforma informática
- **WP 4** → Validación del sistema y prueba on-line
- **WP 5** → Difusión de los resultados

Acciones a desarrollar durante 2019 y siguientes

INNUENDO

-Instalación de los programas INNUENDO en el Servicio General de Investigación de Cálculo de la UPV/EHU (*cluster* Arina)

-Estudio de la relación epidemiológica entre las cepas de *Salmonella enterica* serotipo Typhimurium variante monofásica 4,5,12:i:- multirresistentes a los antibióticos aisladas en cerdo y humano

-Análisis de la presencia de elementos genéticos móviles y detección de genes de virulencia y resistencia a los antibióticos en *Salmonella*

-Estudios epidemiológicos en *Campylobacter jejuni, Escherichia coli* enterohemorrágico y *Yersinia enterocolitica*

Equipo investigador

Joseba Bikandi, Lecturer in Microbiology, PhD Biology

Aitor Rementeria, Lecturer in Microbiology, PhD Biology

Ilargi Martinez, Assistant lecturer, PhD Biology

Lorena Laorden, Assistant lecturer, PhD Biology

- **Alumnado UPV/EHU**
  - Aitor Achaerandio – Doctorado
  - Ainhoa Arrieta – Master
  - Olatz Garaigordobil – Grado

EUSKO JAURLARITZA
GOBIERNO VASCO

Instituto de Salud Carlos III

CSIC
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

Mila esker!!!