

Urinary Pathogen ID/AMR Panel

Nachweis und
Quantifizierung verbreiteter
und selten erkannter
Uropathogene mit hoher
Sensitivität ohne Kultur

- Nachweis von über 170 Pathogenen in Zusammenhang mit komplizierten und unkomplizierten Infektionen
- Coverage von über 3.700 Genen und Genvarianten in Zusammenhang mit Antibiotikaresistenzen
- Geeignet für spezifische Arten von Human- und Umweltproben

illumina[®]

Genetische Bestimmung von Harnwegsinfektionen

Eine Harnwegsinfektion (HWI) ist eine Infektion des Harnsystems (Nieren, Harnleiter, Blase und Harnröhre). Harnwegsinfektionen gehören zu den verbreitetsten bakteriellen Infektionen, können jedoch auch durch Pilze, Viren und Parasiten verursacht werden. Die meisten Infektionen betreffen den unteren Harntrakt, zu dem die Blase und die Harnröhre gehören. Bakterielle Infektionen werden in der Regel mit Antibiotika behandelt, doch zunehmende Antibiotikaresistenzen sind ein schwerwiegendes Problem bei der medizinischen Versorgung.¹

Beim Urinary Pathogen ID/AMR Panel handelt es sich um ein Forschungspanel, das die Leistung der Präzisionsmetagenomik zum Nachweis von Uropathogenen nutzt. Der Inhalt des Panels wurde auf Basis einer bekannten Korrelation mit unkomplizierten oder komplizierten HWI sowie multiresistenten Infektionen entwickelt. Das Panel eignet sich zum Nachweis und zur Quantifizierung von 174 Organismen, darunter häufige und weniger häufige Uropathogene sowie bestimmte sexuell übertragbare Pathogene (Abbildung 1, Tabelle 1). Darüber hinaus deckt das Panel über 3.700 Gene und Genvarianten in Zusammenhang mit Antibiotikaresistenzen ab.

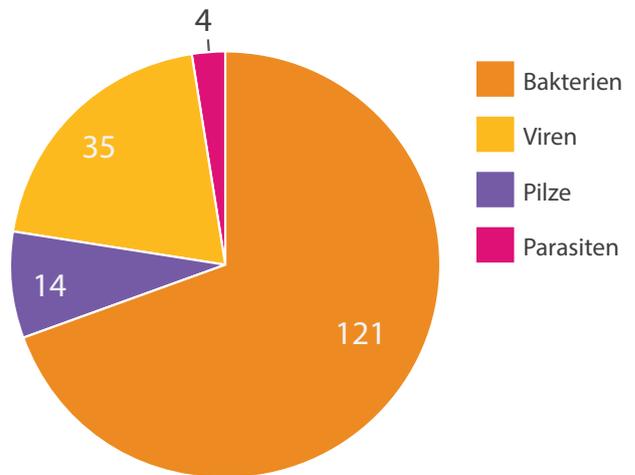


Abbildung 1: Vom Urinary Pathogen ID/AMR Panel abgedeckte Uropathogenkategorien.

Workflow

Das Urinary Pathogen ID/AMR Panel reichert Pathogen Genome aus zahlreichen Wirts- und Umweltproben an. Der Workflow umfasst die DNA-Isolierung, Bibliotheksvorbereitung, Sequenzierung und NGS-Sekundäranalyse (Next-Generation Sequencing, Sequenzierung der nächsten Generation) (Abbildung 2). Die Bibliotheksvorbereitungs- und Sequenzierungsschritte können in zwei Tagen auf einem Tischsequenziersystem erfolgen.

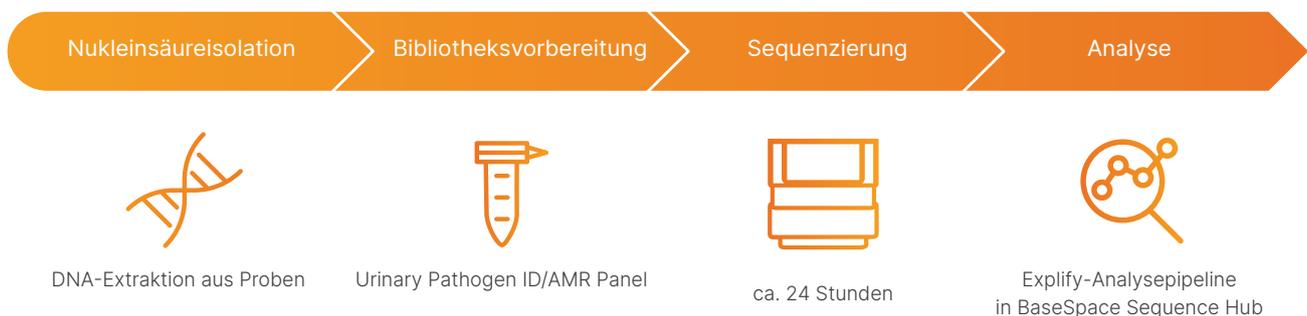


Abbildung 2: Workflow des Urinary Pathogen ID/AMR Panel: In einem optimierten, umfassenden Workflow werden Bibliotheken aus Umwelt- oder Wirtsproben vorbereitet, auf einem beliebigen Illumina-Tischsequenziersystem sequenziert und in der Explyfy-Pipeline für die Pathogenbestimmung, die Generierung von Konsensus-Sequenzen, das Read-Mapping auf Pathogene mit der höchsten Übereinstimmung und die Stammtypisierung analysiert. Die Dauer der Sequenzierung ist abhängig von der Proben-Read-Tiefe und dem jeweiligen Sequenziersystem.

Tabelle 1: Mikroorganismen im Urinary Pathogen ID/AMR Panel.

Name im Bericht					
<i>Acidovorax wautersii</i>	<i>Candida lusitanae</i> (<i>Clavispora lusitanae</i>)	<i>Finegoldia magna</i> (<i>Peptostreptococcus magnus</i>)	Human papillomavirus type 51	<i>Mycobacterium simiae</i> complex	<i>Schistosoma haematobium</i>
<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Francisella tularensis</i>	Human papillomavirus type 52	<i>Mycobacterium szulgai</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Fusobacterium necrophorum</i>	Human papillomavirus type 54	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> complex	Simian virus 40
<i>Acinetobacter pittii</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Human papillomavirus type 55/44	<i>Mycobacterium xenopi</i>	<i>Sneathia amnii</i> (<i>Leptotrichia amnionii</i>)
<i>Actinobaculum massiliense</i>	<i>Chromobacterium violaceum</i>	<i>Giardia intestinalis</i>	Human papillomavirus type 56	<i>Mycobacteroides chelonae</i> (<i>Mycobacterium chelonae</i>)	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Actinotignum sanguinis</i>	<i>Chryseobacterium indologenes</i>	<i>Haemophilus ducreyi</i>	Human papillomavirus type 58	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Actinotignum schaalii</i> (<i>Actinobaculum schaalii</i>)	<i>Citrobacter freundii</i> complex	<i>Haemophilus influenzae</i>	Human papillomavirus type 6	<i>Mycoplasma hominis</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
<i>Aerococcus christensenii</i>	<i>Citrobacter koseri</i>	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	Human papillomavirus type 66	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Staphylococcus hominis</i>
<i>Aerococcus sanguinicola</i>	<i>Corynebacterium aurimucosum</i>	<i>Hafnia alvei</i>	Human papillomavirus type 68	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Staphylococcus intermedius</i>
<i>Aerococcus urinae</i>	<i>Corynebacterium coyleae</i>	Herpes simplex virus 1	Human papillomavirus type 70	<i>Oligella urethralis</i>	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>
<i>Aerococcus viridans</i>	<i>Corynebacterium genitalium</i>	Herpes simplex virus 2	JC polyomavirus	<i>Pantoea agglomerans</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Corynebacterium glucuronolyticum</i>	<i>Histoplasma capsulatum</i>	<i>Klebsiella aerogenes</i> (<i>Enterobacter aerogenes</i>)	<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Staphylococcus simulans</i>
<i>Alloscardovia omnicolens</i>	<i>Corynebacterium jeikeium</i>	Human adenovirus B	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>Staphylococcus warneri</i>
<i>Anaerococcus lactolyticus</i>	<i>Corynebacterium pseudogenitalium</i>	Human adenovirus C	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Anaerococcus vaginalis</i> (<i>Peptostreptococcus vaginalis</i>)	<i>Corynebacterium renale</i>	Human adenovirus E	<i>Klebsiella quasipneumoniae</i>	<i>Prevotella timonensis</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Corynebacterium riegelii</i>	Human herpesvirus 6	<i>Klebsiella variicola</i>	<i>Propionimicrobium lymphophilum</i>	<i>Streptococcus anginosus</i>
<i>Atopobium vaginae</i>	<i>Corynebacterium urealyticum</i>	Human herpesvirus 7	<i>Kluyvera ascorbata</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Streptococcus constellatus</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>	Human herpesvirus 8	<i>Kocuria rosea</i>	<i>Proteus penneri</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	Cytomegalovirus	Human papillomavirus type 11	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Bifidobacterium breve</i>	<i>Dialister microaerophilus</i>	Human papillomavirus type 16	<i>Mobiluncus curtisii</i>	<i>Providencia rettgeri</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
BK polyomavirus	<i>Entamoeba histolytica</i>	Human papillomavirus type 18	<i>Mobiluncus mulieris</i>	<i>Providencia stuartii</i>	<i>Treponema pallidum</i>
<i>Burkholderia cepacia</i> complex	<i>Enterobacter cloacae</i> complex	Human papillomavirus type 30	<i>Molluscum contagiosum</i> virus	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	Human papillomavirus type 31	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Pseudomonas mendocina</i>	<i>Trichosporon asahii</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	Human papillomavirus type 33	<i>Morganella morganii</i>	<i>Pseudomonas putida</i>	<i>Trichosporon beigellii</i> (<i>Cutaneotrichosporon cutaneum</i>)
<i>Candida auris</i> (<i>Clavispora auris</i>)	<i>Enterococcus gallinarum</i>	Human papillomavirus type 35	<i>Mycobacterium avium</i> complex	<i>Rahnella aquatilis</i>	<i>Ureaplasma parvum</i>
<i>Candida dubliniensis</i>	<i>Enterococcus raffinosus</i>	Human papillomavirus type 39	<i>Mycobacterium gordonae</i>	<i>Rhodanobacter denitrificans</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>
<i>Candida fabianii</i> (<i>Cyberlindnera fabianii</i>)	Epstein-Barr virus	Human papillomavirus type 42	<i>Mycobacterium kansasii</i>	<i>Riemerella anatipestifer</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Candida glabrata</i> (<i>Nakaseomyces glabrata</i>)	<i>Escherichia coli</i>	Human papillomavirus type 43	<i>Mycobacterium marinum</i>	<i>Rothia kristinae</i> (<i>Kocuria kristinae</i>)	<i>Vibrio cholerae</i>
<i>Candida krusei</i> (<i>Pichia kudriavzevii</i>)	<i>Facklamia hominis</i>	Human papillomavirus type 45	<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>	<i>Salmonella enterica</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>

Bibliotheksvorbereitung

Das Urinary Pathogen ID/AMR Enrichment Kit enthält alle Bibliotheksvorbereitungsreagenzien, Indizes und Panel-Sonden für die On-Bead-Tagmentierung. Im Anschluss daran folgt ein einzelner Hybridisierungsschritt, was einen schnellen Workflow für die Generierung angereicherter Bibliotheken gewährleistet. Die sondenbasierte Anreicherung bietet folgende Vorteile:

- höhere Sensitivität als bei der Shotgun-Metagenomik-Sequenzierung
- schneller, für die Automatisierung geeigneter Workflow mit minimalem manuellen Aufwand
- skalierbarer Durchsatz, geeignet für das Multiplexing von bis zu 384 Proben in einem Einzellauf



Weitere Informationen zur On-Bead-Tagmentierung: illumina.com/techniques/sequencing/ngs-library-prep/tagmentation.html

Sequenzierung

Die Sensitivität der sondenbasierten Target-Anreicherung bei Urinary Pathogen ID/AMR Panel-Bibliotheken sorgt für Flexibilität bei der Sequenzierung. Das Panel eignet sich bestens für die Tischsysteme MiniSeq™, MiSeq™ sowie NextSeq™ 550, NextSeq 1000 und NextSeq 2000. Die Anzahl der pathogenspezifischen Reads und die erzielte Sequenz-Coverage sind abhängig von der Qualität der Nukleinsäureprobe, der Proben-Read-Tiefe sowie der Anzahl der Reads pro Probe.

Datenanalyse

Das Urinary Pathogen ID/AMR Panel enthält Sonden für 10 im Handel erhältliche Spike-in-Kontrollproben und eignet sich damit für unterschiedliche Versuchsworkflows (Tabelle 2). Die Analyse erfolgt mit der Explify™-Sekundäranalysepipeline, die in BaseSpace™ Sequence Hub zur Verfügung steht.

Die Datenanalysepipeline liefert Contig-Assemblierung, Konsensus-Sequenzen und Metriken zur Genom-Coverage für die im Panel enthaltenen Pathogene. Anwender können einzelne Proben oder einen BaseSpace Sequence Hub-Projektordner mit zu analysierenden Proben auswählen. Die Benutzeroberfläche der Anwendung ermöglicht die Konfiguration von Analyseoptionen, einschließlich Metriken für die Read-Qualitätskontrolle, die

Auswahl quantitativer Spike-in-Kontrollproben sowie gefilterte Berichte für AMR-Marker und Mikroorganismen. Probenergebnisse können in sechs unterschiedlichen Formaten ausgegeben werden: PDF-Zusammenfassungsbericht, Ergebnistabelle im XLSX-Format, umfassender JSON-Bericht, interaktiver HTML-Webbericht, annotierte TSV-Variantentabelle mit bekannten bakteriellen AMR-Markervarianten und (für bestimmte Organismen) FASTA-Konsensgenomsequenzen. Darüber hinaus können Benutzer einen XLSX-Sammelbericht zu allen Proben in einem BaseSpace Sequence Hub-Analyseordner herunterladen, was die nachgeschaltete Analyse der Ergebnisse zu zusammengehörigen Proben (z. B. von Ergebnissen aus demselben Versuch) vereinfacht.

Tabelle 2: Spike-in-Kontrollproben.

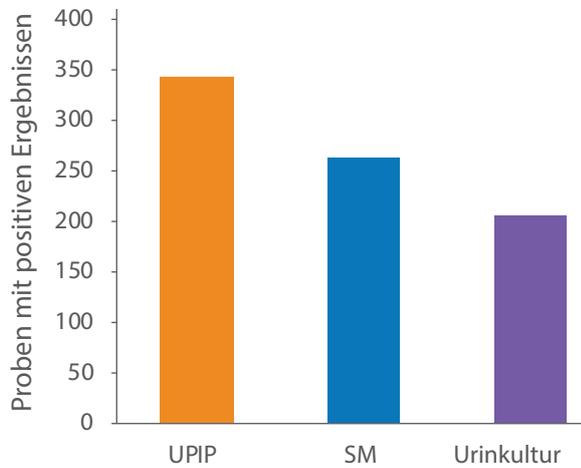
<i>Allobacillus halotolerans</i>
Armored RNA Quant Internal Process Control
Enterobacteria phage T7
<i>Escherichia virus MS2</i>
<i>Escherichia virus Qbeta</i>
<i>Escherichia virus T4</i>
<i>Imtechella halotolerans</i>
<i>Phocid alphaherpesvirus 1</i>
<i>Phocine morbillivirus</i>
<i>Truepera radiovictrix</i>

Leistung

Sensitiver Pathogennachweis

Die Target-Anreicherung des Urinary Pathogen ID/AMR Panel ist äußerst sensitiv und übertrifft die Shotgun-Metagenomik sowie herkömmliche Urinkulturverfahren bei der Bestimmung gängiger Uropathogene. Der Ansatz zur Target-Anreicherung ermöglicht im Vergleich zu Shotgun-Metagenomik-Verfahren zudem eine höhere analytische Sensitivität bei einer geringeren Anzahl von Gesamt-Reads (ca. 1 Mio. gegenüber ca. 10 Mio., 1 × Paired-End-Reads mit 147 bp) (Abbildung 3).

A.



B.

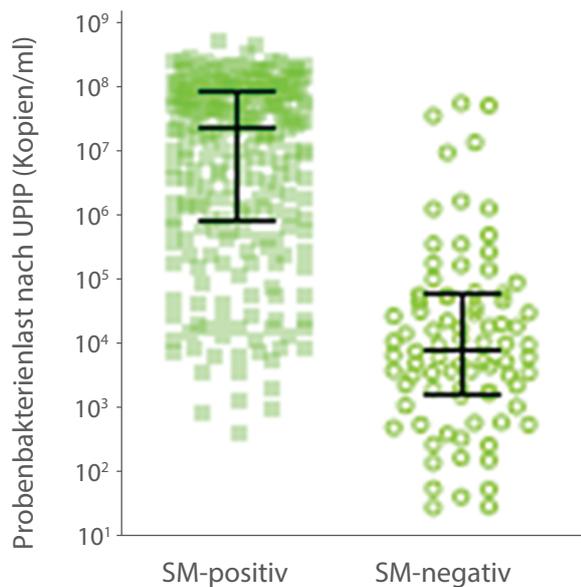


Abbildung 3: Sensitivität des Urinary Pathogen ID/AMR Panel: Das Urinary Pathogen ID/AMR Panel (UPIP) zeichnet sich durch höhere Sensitivität bei der Pathogenbestimmung aus, als die Shotgun-Metagenomik(SM)- und Kulturverfahren. Die Sequenzierung wurde mit einem NextSeq 550-System durchgeführt. (A) Mindestens ein Uropathogen wurde in 342/399 (86 %) Urinproben durch UPIP nachgewiesen, in 262/399 Proben (66 %) durch SM und in 205/399 Proben (51 %) durch Urinkultur. (B) Die mit UPIP ermittelte Bakterienlast war in SM-positiven Proben höher als in SM-negativen Proben ($p < 0,0001$), was die Annahme einer verbesserten analytischen Sensitivität der Sequenzierung mit gezielter Anreicherung im Vergleich zu SM bestätigt.

Zusammenfassung

Das Urinary Pathogen ID/AMR Panel ermöglicht den sensitiven Nachweis von über 170 häufigen und selten erkannten Uropathogenen. Das Panel eignet sich außerdem für den Nachweis von über 3.700 Antibiotikaresistenzmarkern in Zusammenhang mit den enthaltenen Pathogenen, was die Untersuchung von Resistenzprofilen ermöglicht. Der Ansatz des Urinary Pathogen ID/AMR Panel für die Target-Erfassung sorgt für eine höhere Nachweissensitivität als bei Sequenzierungsverfahren mit Shotgun-Metagenomik, wodurch sich das Panel ideal für Tischsequenziersysteme eignet. Das Panel ist für zahlreiche Umweltproben sowie in der biologischen Forschung verwendete Probenarten geeignet.

Weitere Informationen

Urinary Pathogen ID/AMR Panel: illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/urinary-pathogen-id-amr-enrichment-kit.html

BaseSpace-Anwendungen: illumina.com/products/by-type/informatics-products/basespace-sequence-hub.html

Illumina-Sequenzierplattformen: illumina.com/systems/sequencing-platforms.html

Bestellinformationen

Produkt	Katalog-Nr.
Urinary Pathogen ID/AMR Enrichment Kit Set A (RUO) (96 indexes, 96 samples)	20090308
Urinary Pathogen ID/AMR Enrichment Kit Set B (RUO) (96 indexes, 96 samples)	20090309
Urinary Pathogen ID/AMR Enrichment Kit Set C (RUO) (96 indexes, 96 samples)	20090310
Urinary Pathogen ID/AMR Enrichment Kit Set D (RUO) (96 indexes, 96 samples)	20090311

Quellen

- Bono MJ, Leslie SW, Reygaert WC. [Urinary Tract Infection](#). In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 15. Juni 2022.

illumina[®]

+1.800.809.4566 (USA, gebührenfrei) | +1.858.202.4566 (Tel. außerhalb der USA)
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2022 Illumina, Inc. Alle Rechte vorbehalten. Alle Marken sind Eigentum von Illumina, Inc. bzw. der jeweiligen Eigentümer. Spezifische Informationen zu Marken finden Sie unter www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-01333 DEU v1.0