

Urinary Pathogen ID/AMR Panel

Identificazione
e quantificazione altamente
sensibile e senza coltura
dei patogeni comuni
e poco riconosciuti

- Identificazione di più di 170 patogeni associati a infezioni complicate e non complicate
- Copertura di più di 3.700 geni e varianti geniche associate alla resistenza antimicrobica
- Compatibile con determinati tipi di campioni umani e ambientali

illumina[®]

Identificazione genetica delle infezioni del tratto urinario

L'infezione del tratto urinario (UTI, Urinary Tract Infection) è un'infezione che si sviluppa nel sistema urinario (ossia, reni, ureteri, vescica e uretra). Queste sono tra le infezioni batteriche più comuni, tuttavia le UTI possono essere causate anche da agenti fungini, virali e parassitari. La maggior parte delle infezioni coinvolgono il basso tratto urinario, inclusi vescica e uretra. Le infezioni batteriche sono principalmente trattate con antibiotici ma l'aumento dell'antibiotico-resistenza è un grave problema per la salute.¹

L'Urinary Pathogen ID/AMR Panel è un pannello di ricerca che porta l'efficacia della metagenomica di precisione nell'identificazione di uropatogeni. Il contenuto del pannello è stato sviluppato in base alla correlazione riportata con le UTI non complicate o complicate e le infezioni multiresistenti ai farmaci. Il pannello rileva e quantifica 174 organismi, inclusi gli uropatogeni comuni e meno comuni e alcuni patogeni sessualmente trasmessi (Figura 1, Tabella 1). Il pannello copre inoltre più di 3.700 geni e varianti geniche associati alla resistenza antimicrobica (AMR, Antimicrobial Resistance).

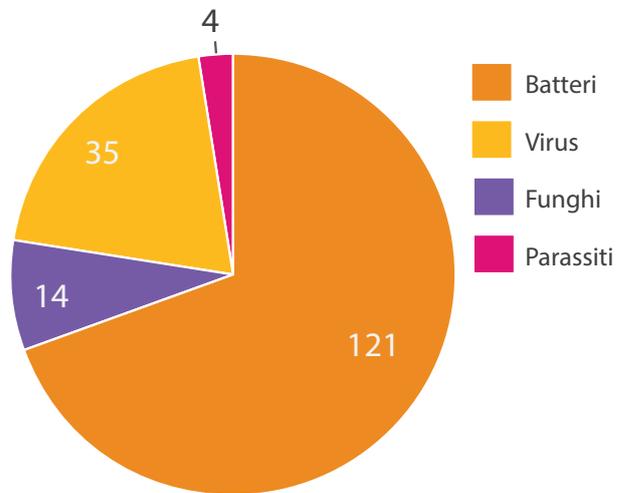


Figura 1: Categorie di patogeni delle vie urinarie coperti dall'Urinary Pathogen ID/AMR Panel.

Flusso di lavoro

L'Urinary Pathogen ID/AMR Panel arricchisce genomi patogeni a partire da un'ampia gamma di campioni host e ambientali. Il flusso di lavoro include l'isolamento del DNA, la preparazione delle librerie, il sequenziamento e l'analisi secondaria dei dati ottenuti dal sequenziamento di nuova generazione (NGS, Next-Generation Sequencing) (Figura 2). Le fasi di preparazione delle librerie e del sequenziamento possono essere completate in due giorni su sistemi di sequenziamento da banco.

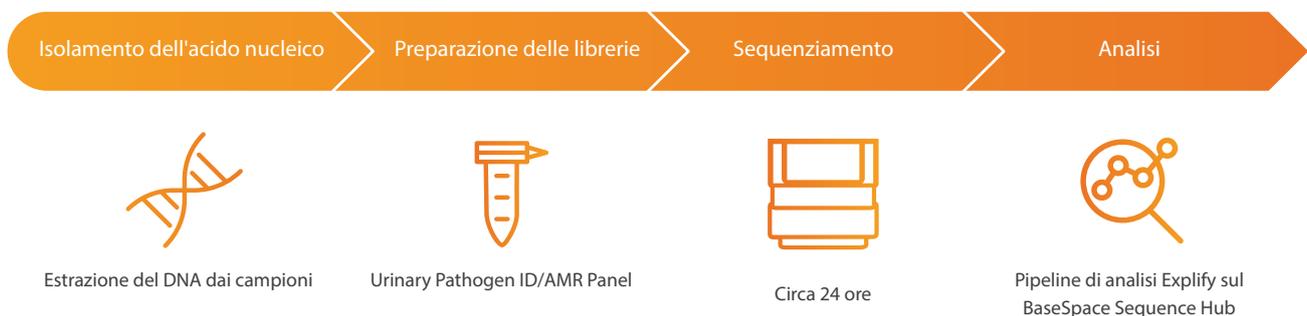


Figura 2: Flusso di lavoro dell'Urinary Pathogen ID/AMR Panel: grazie a un flusso di lavoro esaustivo e ottimizzato le librerie vengono preparate a partire da campioni ambientali o host, quindi sequenziate su qualsiasi sistema di sequenziamento da banco di Illumina e infine analizzate nella pipeline per l'identificazione dei patogeni, la generazione di sequenze consenso, la mappatura delle letture rispetto al patogeno con la migliore corrispondenza e la tipizzazione dei ceppi. La durata del sequenziamento varia in base alla profondità di lettura del campione e dal sistema di sequenziamento utilizzato.

Tabella 1: Microrganismi coperti dall'Urinary Pathogen ID/AMR Panel.

Nome riportato					
<i>Acidovorax wautersii</i>	<i>Candida lusitanae</i> (<i>Clavispora lusitanae</i>)	<i>Finegoldia magna</i> (<i>Peptostreptococcus magnus</i>)	Papilloma virus umano di tipo 51	<i>Mycobacterium simiae</i> complex	<i>Schistosomiasis haematobium</i>
<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Francisella tularensis</i>	Papilloma virus umano di tipo 52	<i>Mycobacterium szulgai</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Fusobacterium necrophorum</i>	Papilloma virus umano di tipo 54	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> complex	Simian virus 40
<i>Acinetobacter pittii</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Papilloma virus umano di tipo 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>	Papilloma virus umano di tipo 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>	Papilloma virus umano di tipo 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>	Papilloma virus umano di tipo 6	<i>Mycoplasma hominis</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
<i>Aerococcus christensenii</i>	<i>Citrobacter koseri</i>	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	Papilloma virus umano di tipo 66	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Staphylococcus hominis</i>
<i>Aerococcus sanguinicola</i>	<i>Corynebacterium aurimucosum</i>	<i>Hafnia alvei</i>	Papilloma virus umano di tipo 68	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Staphylococcus intermedius</i>
<i>Aerococcus urinae</i>	<i>Corynebacterium coyleae</i>	Herpes simplex virus 1	Papilloma virus umano di tipo 70	<i>Oligella urethralis</i>	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>
<i>Aerococcus viridans</i>	<i>Corynebacterium genitalium</i>	Herpes simplex virus 2	Polyomavirus JC	<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 omnicoles</i>	<i>Corynebacterium jeikeium</i>	Adenovirus umano B	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>Staphylococcus warneri</i>
<i>Anaerococcus lactolyticus</i>	<i>Corynebacterium pseudogenitalium</i>	Adenovirus umano 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>	Adenovirus umano E	<i>Klebsiella quasipneumoniae</i>	<i>Prevotella timonensis</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Corynebacterium riegliei</i>	Herpesvirus umano 6	<i>Klebsiella variicola</i>	<i>Propionimicrobium lymphophilum</i>	<i>Streptococcus anginosus</i>
<i>Atopobium vaginae</i>	<i>Corynebacterium urealyticum</i>	Herpesvirus umano 7	<i>Kluyvera ascorbata</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Streptococcus constellatus</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>	Herpesvirus umano 8	<i>Kocuria rosea</i>	<i>Proteus penneri</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	Cytomegalovirus	Papilloma virus umano di tipo 11	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Bifidobacterium breve</i>	<i>Dialister microaerophilus</i>	Papilloma virus umano di tipo 16	<i>Mobiluncus curtisii</i>	<i>Providencia rettgeri</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Polyomavirus BK	<i>Entamoeba histolytica</i>	Papilloma virus umano di tipo 18	<i>Mobiluncus mulieris</i>	<i>Providencia stuartii</i>	<i>Treponema pallidum</i>
<i>Burkholderia cepacia</i> complex	<i>Enterobacter cloacae</i> complex	Papilloma virus umano di tipo 30	<i>Molluscum contagiosum</i> virus	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	Papilloma virus umano di tipo 31	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Pseudomonas mendocina</i>	<i>Trichosporon asahii</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	Papilloma virus umano di tipo 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>	Papilloma virus umano di tipo 35	<i>Mycobacterium avium</i> complex	<i>Rahnella aquatilis</i>	<i>Ureaplasma parvum</i>
<i>Candida dubliniensis</i>	<i>Enterococcus raffinosus</i>	Papilloma virus umano di tipo 39	<i>Mycobacterium goodii</i>	<i>Rhodanobacter denitrificans</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>
<i>Candida fabianii</i> (<i>Cyberlindnera fabianii</i>)	Epstein-Barr virus	Papilloma virus umano di tipo 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>	Papilloma virus umano di tipo 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>	Papilloma virus umano di tipo 45	<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>	<i>Salmonella enterica</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>

Preparazione delle librerie

L'Urinary Pathogen ID/AMR Enrichment Kit contiene tutti i reagenti per la preparazione delle librerie, gli indici e le sonde del pannello per la tagmentazione su microsfere seguita da una singola fase di ibridazione per fornire un rapido flusso di lavoro per la generazione di librerie arricchite. L'arricchimento basato su sonde fornisce:

- Sensibilità migliorata rispetto al sequenziamento metagenomico Shotgun
- Flusso di lavoro rapido e compatibile con l'automazione con minimi interventi manuali
- Processività scalabile che supporta il multiplex fino a 384 campioni in una singola corsa

 Per maggiori informazioni sulla tagmentazione su microsfere, illumina.com/techniques/sequencing/ngs-library-prep/tagmentation.html.

Sequenziamento

La sensibilità dell'arricchimento dei target basato su sonde utilizzato con le librerie dell'Urinary Pathogen ID/AMR Panel fornisce opzioni di sequenziamento flessibili. Il pannello è ideale per l'uso con i sistemi da banco MiniSeq™, MiSeq™ e NextSeq™ 550, NextSeq 1000 e NextSeq 2000. La qualità del campione di acido nucleico, la profondità di lettura del campione e il numero di letture per campione influiscono sul numero di letture specifico per il patogeno e sulla copertura della sequenza ottenuta.

Analisi dei dati

Al fine di supportare diversi flussi di lavoro sperimentali, l'Urinary Pathogen ID/AMR Panel include sonde che mirano a 10 opzioni di controllo spike-in disponibili in commercio (Tabella 2). L'analisi viene eseguita con la pipeline di analisi secondaria Explify™ disponibile su BaseSpace™ Sequence Hub.

La pipeline di analisi dei dati fornisce assemblaggio di contig, sequenze consenso e metriche di copertura del genoma per i patogeni disponibili sul pannello. Gli utenti possono selezionare singoli campioni oppure una cartella del progetto su BaseSpace Sequence Hub contenente i campioni per l'analisi. L'interfaccia dell'applicazione consente di configurare le opzioni di analisi, inclusi metriche di controllo qualità delle letture, selezione di controlli spike-in quantitativi e report filtrati per i marcatori e i microrganismi AMR. I risultati dei

campioni possono essere generati in sei diversi formati: report di riepilogo in formato PDF, foglio di calcolo dei risultati in formato XLSX, report esaustivo in formato JSON, report interattivo sul Web in formato HTML, tabella di varianti in formato TSV annotata con varianti di marcatori batterici AMR noti e sequenze genomiche consenso in formato FASTA per alcuni organismi. Inoltre, l'utente può scaricare un report aggregato in formato XLSX per tutti i campioni in una cartella di analisi di BaseSpace Sequence Hub per semplificare l'analisi a valle dei risultati ottenuti da campioni correlati (ad esempio, risultati ottenuti dallo stesso esperimento).

Tabella 2: Opzioni di controlli spike-in.

<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>Trueperia radiovictrix</i>

Prestazioni

Rilevamento sensibile di patogeni

Il design dell'arricchimento dei target dell'Urinary Pathogen ID/AMR Panel è altamente sensibile e supera la metagenomica Shotgun e i metodi di urocultura convenzionali per l'identificazione degli uropatogeni comuni. L'approccio dell'arricchimento dei target consente anche una maggiore sensibilità analitica a un numero inferiore di letture totali rispetto ai metodi di metagenomica Shotgun, circa un 1 milione rispetto a circa 10 milioni, 1 × 147 bp per letture paired-end (Figura 3).

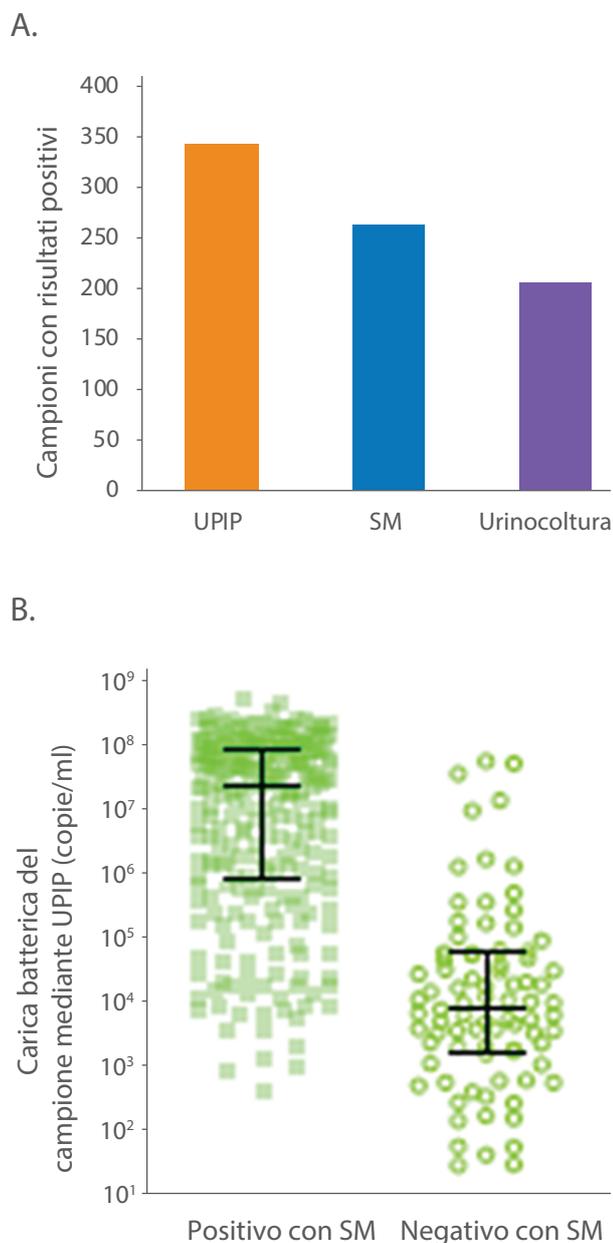


Figura 3: Sensibilità dell'Urinary Pathogen ID/AMR Panel: L'Urinary Pathogen ID/AMR Panel (UIPIP) offre un'identificazione di patogeni più sensibile rispetto a metodi con metagenomica Shotgun (SM, Shotgun Metagenomics) e basati su coltura. Il sequenziamento è stato eseguito su un NextSeq 550 System. (A) Uno o più uropatogeni rilevati in 342/399 (86%) campioni di urina con UPIP, in 262/399 campioni (66%) con SM e in 205/399 campioni (51%) con urinocoltura. (B) Il carico batterico rilevato da UPIP era maggiore in SM positiva rispetto a campioni in SM negativa ($p < 0,0001$), coerentemente con la predizione di sensibilità analitica migliorata del sequenziamento mediante arricchimento mirato rispetto a SM.

Riepilogo

L'Urinary Pathogen ID/AMR Panel offre il rilevamento sensibile di più di 170 uropatogeni comuni e poco riconosciuti. Il pannello è inoltre in grado di identificare più di 3.700 marcatori di resistenza antimicrobica, per investigare i profili della resistenza. L'approccio basato sulla cattura dei target dell'Urinary Pathogen ID/AMR Panel consente una maggiore sensibilità di rilevamento rispetto ai metodi di sequenziamento con metagenomica Shotgun ed è ideale per i sistemi di sequenziamento da banco. Il pannello è compatibile con una gamma di tipi di campioni ambientali e per la ricerca biologica.

Maggiori informazioni

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

Applicazioni di BaseSpace, illumina.com/products/by-type/informatics-products/basespace-sequence-hub.html.

Piattaforme di sequenziamento di Illumina, illumina.com/systems/sequencing-platforms.html.

Informazioni per gli ordini

Prodotto	N. di catalogo
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

Bibliografia

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

illumina[®]

Numero verde 1.800.809.4566 (U.S.A.) | Tel. +1.858.202.4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2022 Illumina, Inc. Tutti i diritti riservati. Tutti i marchi di fabbrica sono di proprietà di Illumina, Inc. o dei rispettivi proprietari. Per informazioni specifiche sui marchi di fabbrica, consultare la pagina Web www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-01333 ITA v1.0