

Sekvenace celého genomu *N. meningitidis* poskytuje podklady k zpřesnění vakcinační strategie

Pavla Křížová, Michal Honskus, Zuzana Okonji, Martin Musílek, Jana Kozáková

NRL pro meningokokové nákazy
Centrum epidemiologie a mikrobiologie
Státní zdravotní ústav
Praha

HVD, 2018

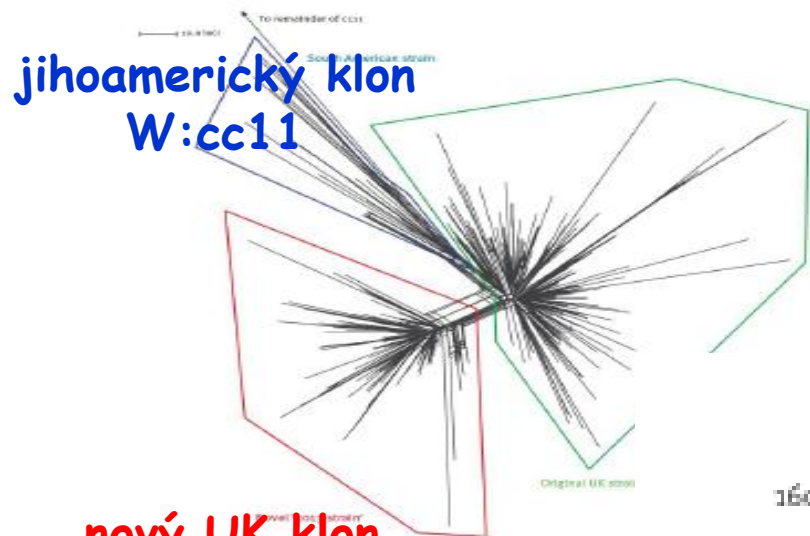


Úvod

- Metoda sekvenace celého genomu *N. meningitidis* (Whole Genome Sequencing, WGS) má vyšší diskriminační schopnost než standardní metody klasické sekvenace (např. Multilocus Sequence Typing, MLST) a je celosvětově velmi rychle zaváděna do surveillance invazivního meningokokového onemocnění (IMO).
- V Anglii byla touto metodou rozpoznána nová linie hypervirulentního klonálního komplexu *N. meningitidis* W, cc11, jejíž rychlé šíření zde způsobilo trojnásobný vzestup nemoci IMO a vedlo v září 2015 k zavedení konjugované tetravakcíny ACYW pro revakcinaci adolescentů, namísto původně užívané konjugované monovakcíny C.
- Angličtí autoři ve své studii také poukázali na možnost účinku MenB vakcíny proti hypervirulentním liniím *N. meningitidis* W klonálního komplexu cc11.

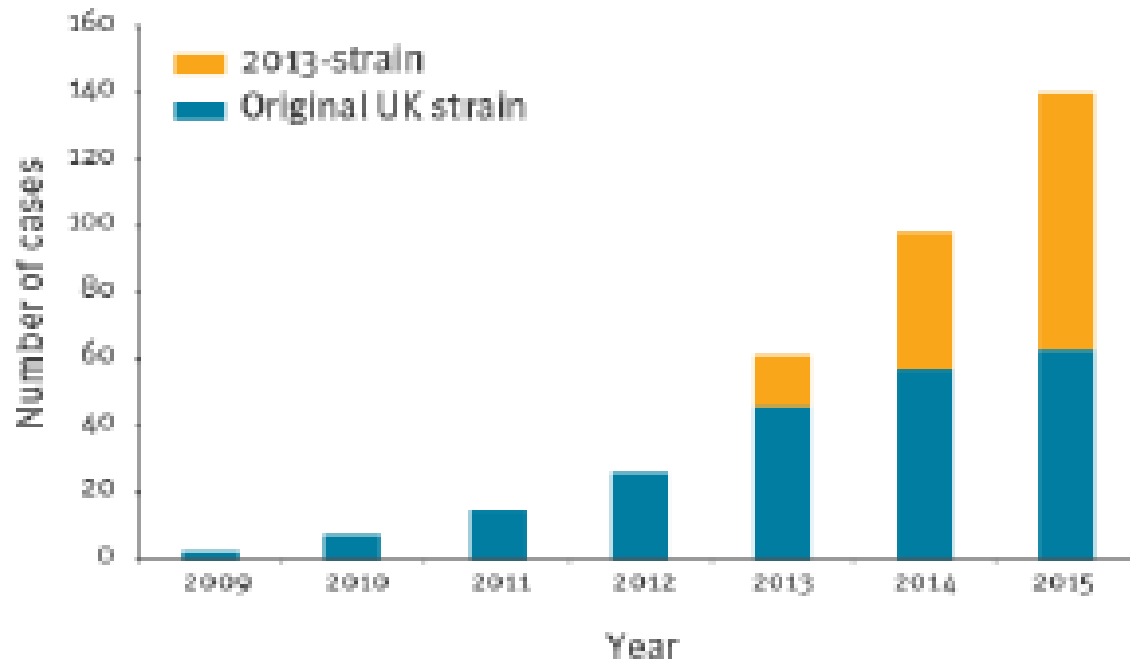
původní W:cc11

Nové klony komplexu W:cc11 - WGS analýzy



originální UK klon
W:cc11 = 2009

nový UK klon
W:cc11 = 2013



Lucidarme J. et al., 2016

Materiál a metody

Metodou WGS byly studovány izoláty *N. meningitidis* zaslané do NRL:

- *N. meningitidis* z IMO z roku 2015

Křížová P. a kol., 2018, *EMI*

- *N. meningitidis* W z období 1984–2017

Honskus M. et al., 2018, *PLoS One*

Celkem 51 izolátů.

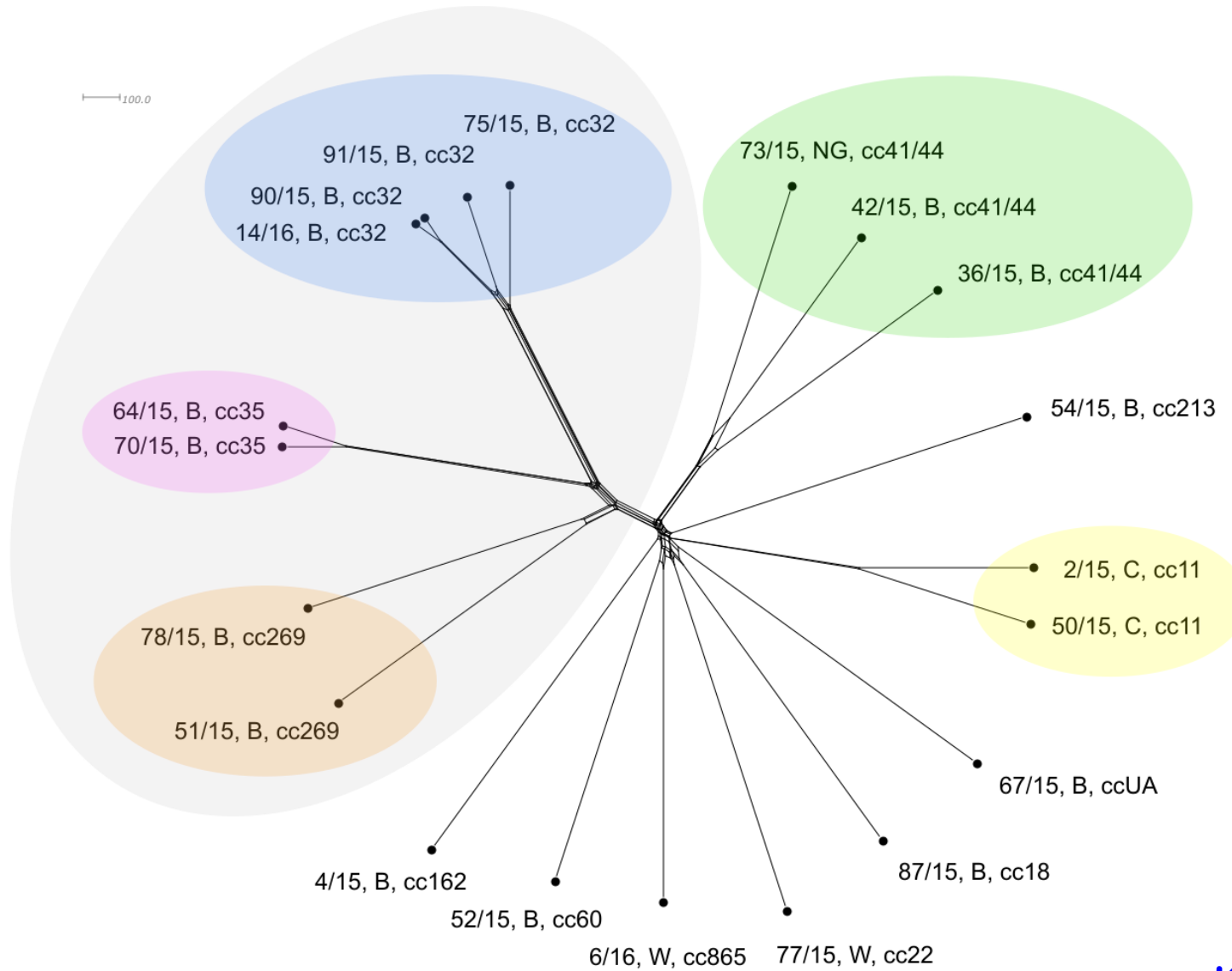
Celogenomová sekvenace proběhla na platformě Illumina MiSeq. Data WGS byla v NRL zpracována pomocí programu Velvet *de novo* assembler a analyzována s využitím BIGSdb Genome Comparator, který je součástí databáze Neisseria PubMLST.

Kombinace peptidových a alelových variant antigenů vakcíny MenB-4C, jsou v BIGS databázi definovány jako charakteristika BAST typ (Bexsero® Antigen Sequence Typing) izolátu.

IMO 2015 - klonální komplexy

- Nejčastěji zjištěnými klonálními komplexy byly cc32 a cc41/44, typické pro séroskupinu B.
- Na druhém místě v četnosti byly: hypervirulentní cc11, typický pro séroskupinu C, dále komplexy cc35 a cc269, typické pro séroskupinu B.
- Ostatní detekované klonální komplexy byly zastoupeny vždy jedním izolátem: cc18, cc60, cc162, cc213 (séroskupina B), cc22 a cc865 (séroskupina W).

IMO 2015 - klonální komplexy



Křížová P. a kol., 2018

IMO 2015 - BAST typy

- Bylo zjištěno 15 již definovaných BAST typů.
- U dvou izolátů byly zjištěny dosud nedefinované kombinace antigenů a po předložení do BIGS databáze jim bylo přiděleno nové označení.
- U tří izolátů se BAST typ nepodařilo určit.

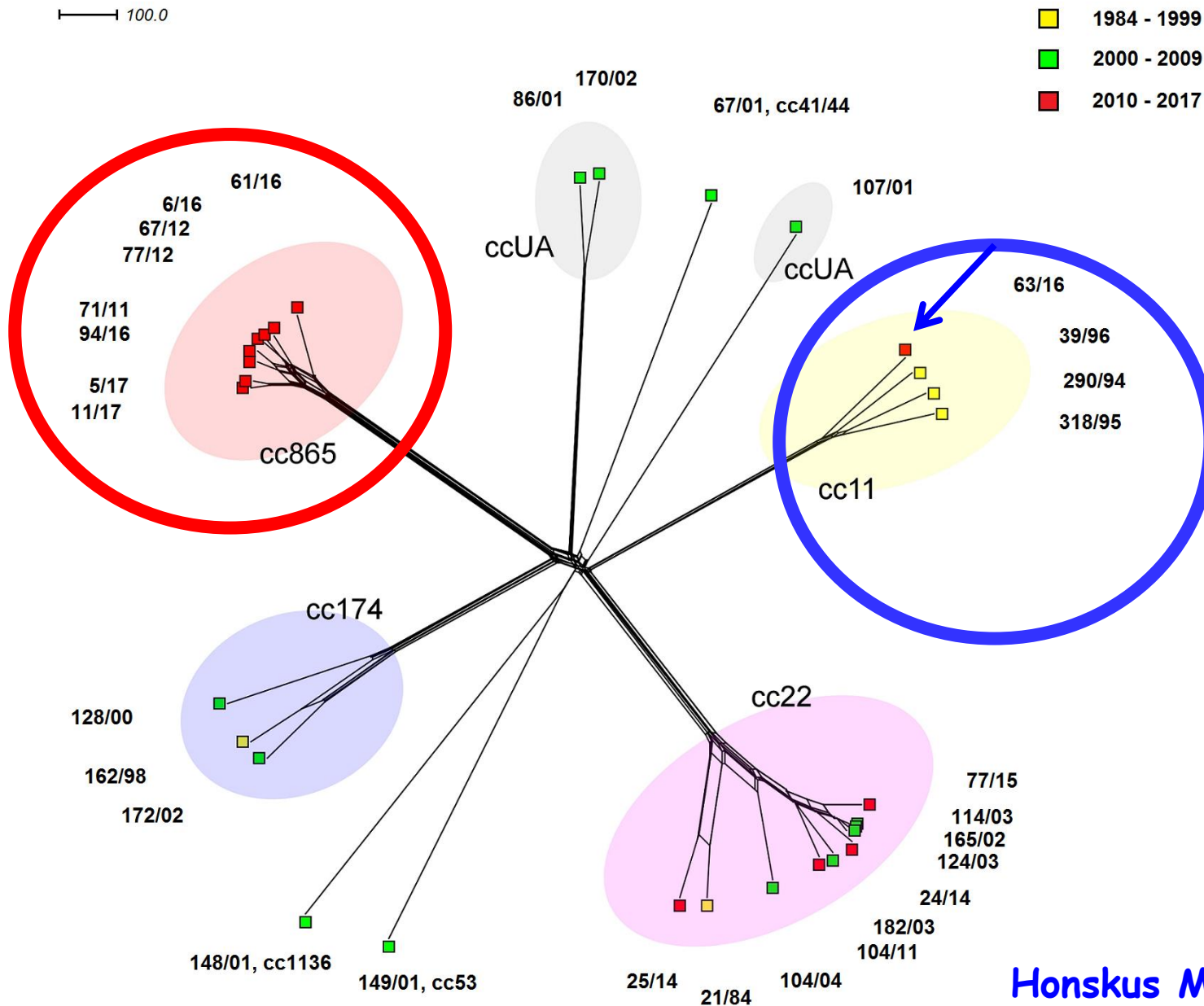
IMO 2015 - antigeny Men B vakcín

Číslo izolátu, séroskopina, klonální komplex	Sekvenační typ	<i>por A VR1 por A VR2</i>		NHBA peptid	NadA peptid	NadA peptidová varianta	fHbp peptid	fHbp peptidová varianta		BAST typ
75/15, B, cc32	33	19	15	3	1	NadA-1	1	1	B	5
90/15, B, cc32	4948	7	16	3	1	NadA-1	1	1	B	4
91/15, B, cc32	32	7	16-20	5	1	NadA-1	1	1	B	79
14/16, B, cc32	4948	7	16	3	1	NadA-1	1	1	B	4
36/15, B, cc41/44	1194	18-1	3	2	0	0	4	1	B	239
42/15, B, cc41/44	110	19	15	2	0	0	19	2	A	644
73/15, NG, cc41/44	1790	7	30	2	0	0	22	2	A	2554
2/15, C, cc11	11	5	2	20	0	0	NAF			ND
50/15, C, cc11	5752	5	2	29	127	NadA-2/3	22	2	A	38
64/15, B, cc35	35	22-1	14	21	0	0	16	2	A	257
70/15, B, cc35	35	22-1	14	21	0	0	16	2	A	257
51/15, B, cc269	11363	22	14-6	NAF	0	0	25	2	A	ND
78/15, B, cc269	467	19-1	15-11	0	0	0	15	1	B	ND
87/15, B, cc18	11853	22	14	6	0	0	37	1	B	247
52/15, B, cc60	13040*	5	2	24	0	0	13	1	B	237
4/15, B, cc162	162	7-2	4	20	0	0	21	2	A	246
54/15, B, cc213	213	22	14	18	0	NadA-4/5 +	59	3	A	304
77/15, W, cc22	2878	18-1	3	20	0	0	16	2	A	349
6/16, W, cc865	3342	5-2	10-1	89	21	NadA-4/5	321	1	B	1320
67/15, B, ccUA	11532	5-3	2-16	63	0	0	931	1	B	2555

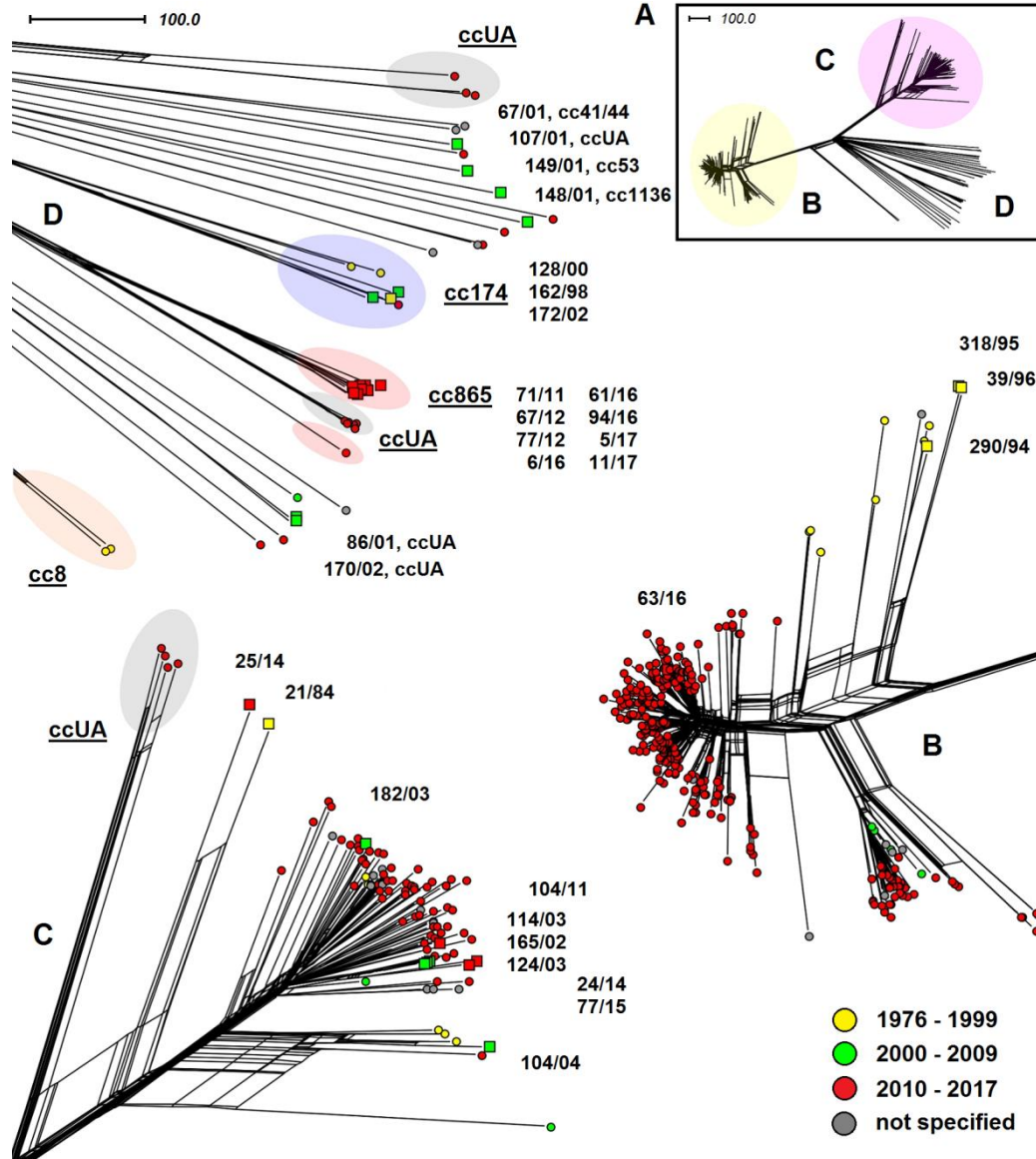
N. meningitidis W z období 1984-2017

- Nejvýznamnějším zjištěním je relativně vysoký výskyt komplexu cc865, ST-3342 v období 2011-2017 u izolátů z IMO.
- Z celosvětové databáze BIGS vyplývá, že ST-3342, cc865 byl dosud zachycen výhradně na území České republiky.
- Všechny ostatní světové izoláty cc865 (n=7) patří k odlišným sekvenčním typům.
- Hypervirulentní klonální komplex cc11 je v souboru zastoupen pouze čtyřmi izoláty, z nichž pouze jeden náleží do nové linie a byl zjištěn u importovaného případu IMO z roku 2016.
- Metodou WGS byly v českých izolátech *N. meningitidis* W detekovány geny antigenů MenB vakcín, což by mohlo znamenat možnost účinku těchto vakcín i na izoláty séroskupiny W.

N. meningitidis W z období 1984-2017 - Česká republika



N. meningitidis W z období 1984-2017 - Česká republika versus Evropa (430 izolátů)



ČR versus UK (932 izolátů)
ČR versus non-Evropa (394 izolátů)
cc11 (1098 izolátů)
cc22 (169 izolátů)

Honskus M. et al., 2018



N. meningitidis W z období 1984-2017, Česká republika- antigeny Men B vakcín

Isolate	PubMLST ID	Clinical status	Clonal complex	Sequence type	<i>abcZ</i>	<i>adk</i>	<i>aroE</i>	<i>fumC</i>	<i>gdh</i>	<i>pdhC</i>	<i>pgm</i>	<i>porA</i> VR1	<i>porA</i> VR2	<i>fetA</i> VR	<i>nhba</i> peptid	<i>nhba</i> allele	<i>nadA</i> peptid	<i>nadA</i> allele	<i>nadA</i> variant	<i>fhbp</i> peptid	<i>fhbp</i> allele	<i>fhbp</i> variant	BAST type	
21/84	57208	IMD	cc22	114	11	5	18	17	11	24	21	5-2	10	F3-4	20	3		0		16	16	A	2	1417
165/02	57846	CAR	cc22	2878	12	5	18	8	11	24	21	18-1	3	F4-1	20	3		0		16	16	A	2	349
114/03	57842	CAR	cc22	2878	12	5	18	8	11	24	21	18-1	3	F4-1	20	3		0		16	16	A	2	349
124/03	57843	CAR	cc22	2878	12	5	18	8	11	24	21	18-1	3	F4-1	20	3		0		16	16	A	2	349
182/03	57225	IMD	cc22	184	11	5	18	8	11	4	21	18-1	3	F4-1	20	3		0		16	16	A	2	349
104/04	57218	IMD	cc22	22	11	5	18	8	11	24	21	18-1	3	F4-1	20	3		0		16	16	A	2	349
104/11	57219	IMD	cc22	6342	11	3	18	8	11	24	21	18-1	3	F4-1	20	3		0		16	16	A	2	349
24/14	57834	CAR	cc22	3172	10	5	18	8	11	24	21	18-1	3	F4-1	20	3		0		16	16	A	2	349
25/14	57209	IMD	cc22	10793	11	5	18	17	11	25	21	5-2	10	F3-4	20	3		0		16	16	A	2	1417
77/15	38989	IMD	cc22	2878	12	5	18	8	11	24	21	18-1	3	F4-1	20	3		0		16	16	A	2	349
71/11	57215	IMD	cc865	3342	8	5	6	17	8	31	8	5-2	10-1	F5-8	89	257	21	109	NadA-4/5	321	380	B	1	1320
67/12	57214	IMD	cc865	3342	8	5	6	17	8	31	8	5-2	10-1	F5-8	89	257	21	109	NadA-4/5	321	380	B	1	1320
77/12	57216	IMD	cc865	3342	8	5	6	17	8	31	8	5-2	10-1	F5-8	89	257		0		321	380	B	1	2939
6/16	41191	IMD	cc865	3342	8	5	6	17	8	31	8	5-2	10-1	F5-8	89	257	21	109	NadA-4/5	321	380	B	1	1320
61/16	57212	IMD	cc865	3342	8	5	6	17	8	31	8	5-2	10-1	F5-8	89	257	21	109	NadA-4/5	321	380	B	1	1320
94/16	57217	IMD	cc865	3342	8	5	6	17	8	31	8	5-2	10-1	F5-8	89	257	21	109	NadA-4/5	321	380	B	1	1320
5/17	57829	IMD	cc865	3342	8	5	6	17	8	31	8	5-2	10-1	F5-8	89	1438	21	109	NadA-4/5	321	380	B	1	1320
11/17	57832	CAR	cc865	3342	8	5	6	17	8	31	8	5-2	10-1	F5-8	89	1438	21	109	NadA-4/5	321	380	B	1	1320
290/94	57226	IMD	cc11	247	2	3	4	5	8	4	6	5	2	F3-1	29	17	3	3	NadA-2/3	22	22	A	2	3
318/95	57227	IMD	cc11	11	2	3	4	3	8	4	6	5	2	F3-1	29	17	3	3	NadA-2/3	22	22	A	2	3
39/96	57211	IMD	cc11	11	2	3	4	3	8	4	6	5	2	F3-1	29	17	3	3	NadA-2/3	22	22	A	2	3
63/16	57213	IMD	cc11	11	2	3	4	3	8	4	6	5	2	F1-1	29	17	6	5	NadA-2/3	22	22	A	2	2
162/98	57222	IMD	cc174	2977	6	148	15	17	5	24	17	22	26	F3-7	6	9		0		13	13	B	1	2857
128/00	57221	IMD	cc174	3474	6	5	34	17	5	24	9	22	26	F3-7	6	9		0		321	380	B	1	2865
172/02	57224	IMD	cc174	2977	6	148	15	17	5	24	17	22	26	F3-7	6	9		0		421	491	A	2	355
67/01	57836	CAR	cc41/44	5002	2	5	9	9	9	6	8	19	15	F1-14	656	533		0		24	24	A	2	2866
148/01	57844	CAR	cc1136	13459	5	210	38	15	22	40	13	18-4	25	F4-1	145	44		0		94	91	A	3	657
149/01	57845	CAR	cc53	123	16	2	6	25	17	11	22	7-2	10-1	F1-13	58	65		0		102	102	A	2	2871
86/01	57841	CAR	ccUA	4774	23	5	9	68	13	32	8	19-1	9	F5-13	24	15		0		245	302	B	1	2873
107/01	57220	IMD	ccUA	1184	46	20	4	7	58	20	8	5-3	2-16	F1-5	129	234		0		21	21	A	2	2872
170/02	57223	IMD	ccUA	130	23	5	9	3	13	32	8	18-12	10-2	F2-7	24	15		0		245	302	B	1	1298

clinical status: IMD = invasive meningococcal disease or from a healthy carrier

ccUA = clonal complex unassigned

porA VR1, VR2 = *porA* variable region 1 and 2

v = isolate lacks a functional allele

yellow highlight = newly described gene allele, the sequence type, or the BAST type

Závěry

- WGS metoda prokázala svoji absolutní diskriminační kapacitu a schopnost přesnějšího určení genetických vlastností *N. meningitidis*.
- Kvalitnější data umožnila identifikaci nových alel a nových sekvenčních typů, které nebyly klasickými sekvenčními metodami rozpoznány.
- WGS data poskytují přesnější informace o pokrytí českých izolátů MenB vakcínami a dávají kvalitnější podklady pro aktualizaci vakcinační strategie.

Podpora projektu

Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. 15-34887A.
Veškerá práva podle předpisů na ochranu duševního vlastnictví jsou vyhrazena.

Literatura

Lucidarme J, Scott KJ, Ure R, *et al.* An international invasive meningococcal disease outbreak due to a novel and rapidly expanding serogroup W strain, Scotland and Sweden, July to August 2015. *Euro Surveill.* 2016; 21(45):pii30395. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2016.21.45.30395 PMID: 27918265

<http://www.szu.cz/nrl-pro-meningokokove-nakazy-publikace>

Křížová P, Honskus M, Okonji Z, Musílek M, Kozáková J. Surveillance invazivního meningokokového onemocnění založená na sekvenaci celého genomu (WGS), Česká republika, 2015. *Epidemiol Mikrobiol Imunol.* 2018;67(2):64

Honskus M, Okonji Z, Musilek M, Kozakova J, Krizova P. Whole genome sequencing of *Neisseria meningitidis* W isolates from the Czech Republic recovered in 1984-2017. *PLoS One.* 2018 Sep 13;13(9):e0199652. doi: 10.1371/journal.pone.0199652.

Děkuji za pozornost