

# WGS and bioinformatics workflow for *Campylobacter* sp. surveillance in France

**Quentin Jehanne**, Bioinformatics PhD  
National Reference Center for Campylobacters and Helicobacters  
Bordeaux Hospital University Center, France

Copenhagen - April 26th, 2023



STATENS  
SERUM  
INSTITUT



# French National Reference Center for Campylobacters and Helicobacters (NRCCH)



- Pr Philippe Lehours ([Head](#))
  - Dr Emilie Bessède ([Co-Head](#))
  - Lucie Bruhl, Quentin Jehanne ([Eng.](#))
  - Marine Jauvain ([PhD student](#))
  - Astrid Ducournau, Johanna Aptel ([Tech.](#))
  - Erick Keisler ([Secretary](#))
- + many students ...

# NRCCH Activities



- To survey
- To alert
- To validate
- To advise

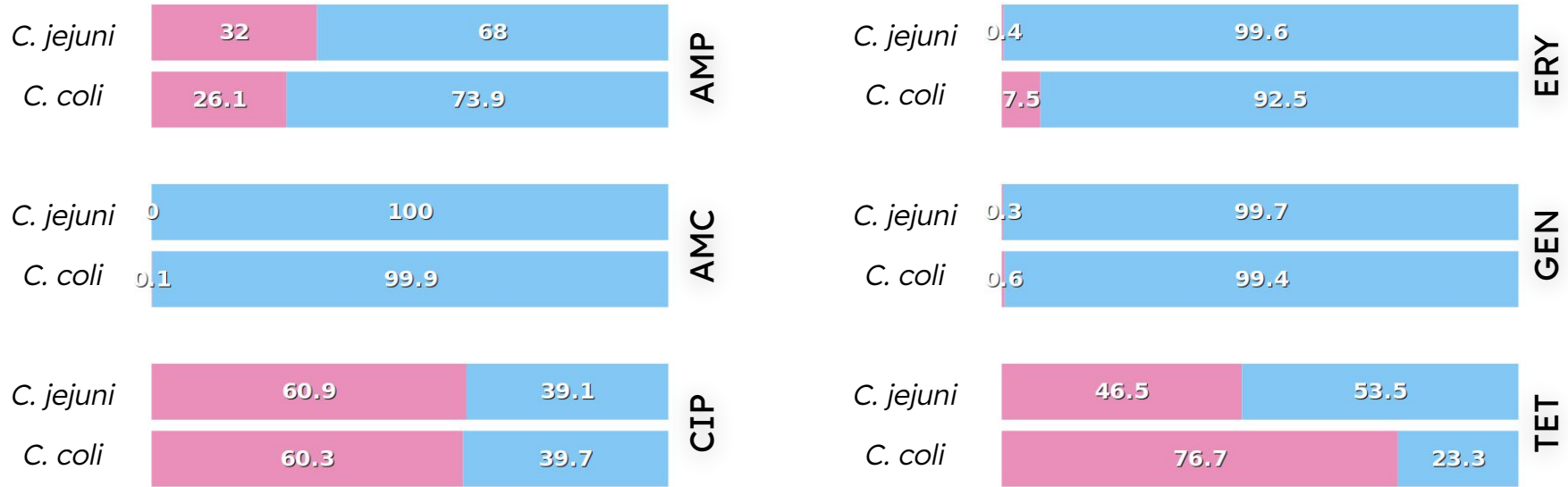
# “French” *Campylobacter* species

Species	sample type			Total	%
	Stools	Blood	Others		
<i>C. jejuni</i>	7577	63	9	7649	86.19
<i>C. coli</i>	1092	12	0	1104	12.44
<i>C. fetus</i>	20	51	9	80	0.90
<i>C. lari</i>	9	0	1	10	0.11
<i>C. ureolyticus</i>	0	5	5	10	0.11
<i>C. rectus</i>	0	1	4	5	0.06
<i>C. upsaliensis</i>	4	0	0	4	0.05
<i>C. concisus</i>	2	0	1	3	0.03
<i>C. curvus</i>	0	1	2	3	0.03
<i>C. ornithocola</i>	2	0	0	2	0.02
<i>C. showae</i>	1	0	1	2	0.02
<i>C. gracilis</i>	0	1	0	1	0.01
<i>C. hyointestinalis</i>	1	0	0	1	0.01
<i>C. lanienae</i>	1	0	0	1	0.01
<b>Total</b>	<b>8709</b>	<b>134</b>	<b>32</b>	<b>8875</b>	<b>100</b>

**Table 1:** *Campylobacter* species received and identified by the NRCCH in 2021.



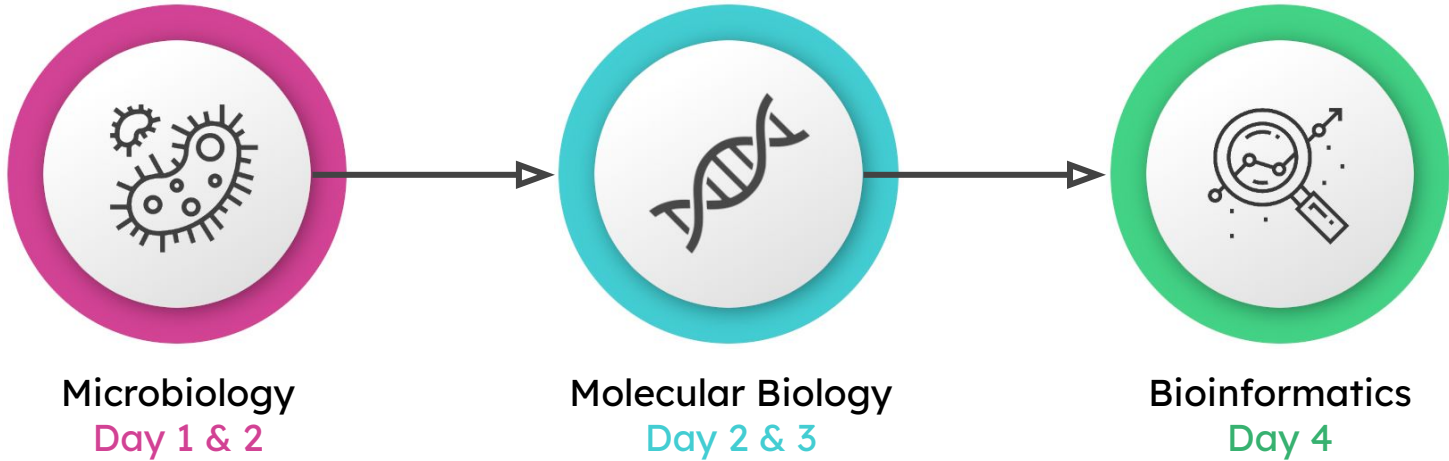
# Antimicrobial resistances in 2021



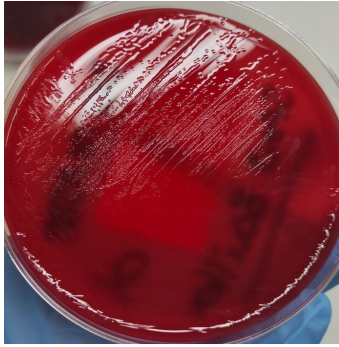
**Figure 1:** AST performed on approximately 7,700 *C. jejuni* + *C. coli* isolates for ampicillin (AMP), acid clavulanic + amoxicillin (AMC), ciprofloxacin (CIP), erythromycin (ERY), gentamicin (GEN) and tetracycline (TET).

Legends : % resistant - % susceptible

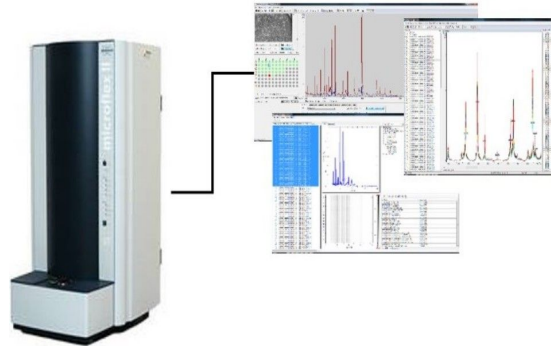
# 4 days of analyses workflow



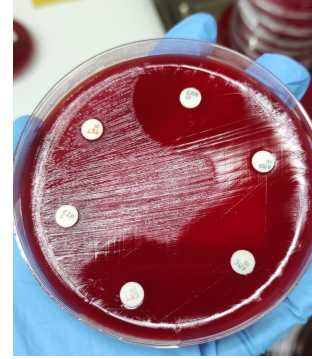
# Day 1 and 2 - Growth, MALDI-TOF and Antimicrobial Susceptibility Testing



**Fig2:** *C. jejuni* on CBA.



**Fig3:** Bruker MALDI-TOF.



**Fig4:** Disk-diffusion AST.



- **Isolate growth** : Columbia blood agar in microaerobic conditions for 24H at 37°C.
- **Species identification** : MALDI-TOF mass-spectrometry.
- **AST** : CASFM/EUCAST 2020 recommendations for **AMP**, **CIP**, **ERY**, **TET** and **GEN**.  
**Mueller-Hinton** growth in microaerobic conditions for 48H at 37°C.

## Day 2 - DNA extraction



**Figure 5:** Picture of Roche's MagNA Pure 96 system.

- **DNA** is **extracted** from pure bacterial cultures using the MagNA Pure 6 DNA and viral NA SV kit
- **DNA purification** is performed by bacterial lysis on a MagNA Pure 96 system (Roche Applied Science).



## Day 2 - Library preparation

- Library preparation is realized using Illumina kits from day 2 to day 3.
- We plan to use automatic preparation systems (such as Beckman NGenius) to improve both handling time and quality.



**Figure 6:** Illumina DNA Flex Library Prep kits.



# Day 3 - Whole Genome Sequencing (WGS)

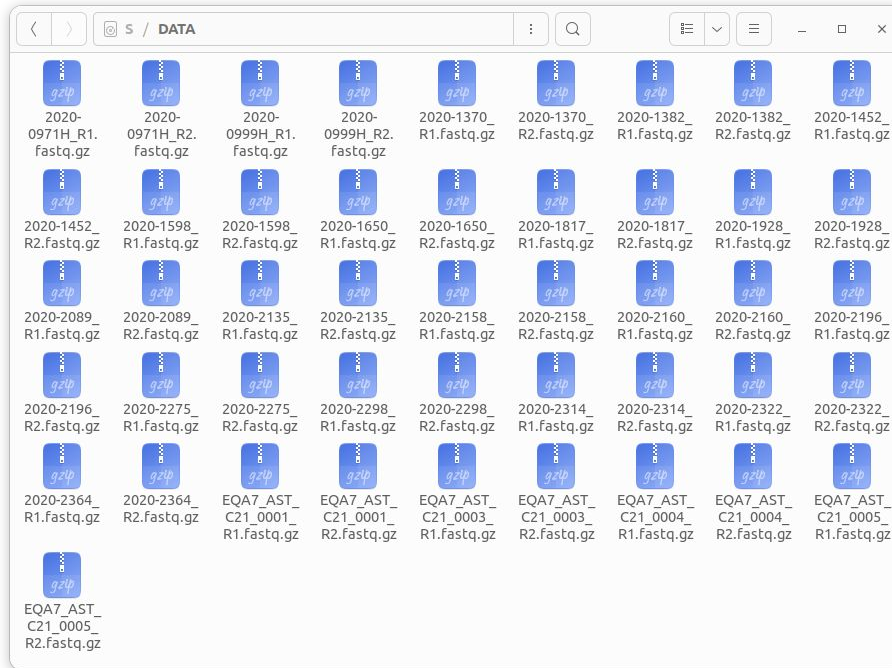


**Figure 7:** Illumina Iseq 100 sequencer.

- Paired-end next-generation sequencing (NGS) is performed on **~24** DNA samples using Illumina Iseq 100.
- For larger runs, we send **96 samples** plates to a third-party company (Integragen, Paris).



# Day 4 - Bioinformatics analyses



**Figure 8:** Raw sequencing data (compressed .fastq files).





# Day 4 - Bioinformatics pipeline preview



```
quentin@quentin-chu: ~/work/  
quentin@quentin-chu:~$ chp /path/input_directory/ /path/output_directory/
```

**Figure 9:** The NRCCH bioinformatics pipeline can be run using Linux terminal giving the path to raw sequencing files and the output results directory.



# Day 4 - Bioinformatics pipeline preview

```
quentin@quentin-chu: ~/work/
ISOLATE [1/24] 10
04/07/23 15:02:37 Step 1 Data cleaning ...
04/07/23 15:02:39 Step 2 Genome assembly ...
04/07/23 15:03:33 Step 3 Resistance finding ...
04/07/23 15:07:14 Step 4 Species identification ...
04/07/23 15:07:33 Step 5 Molecular typing ...
04/07/23 15:07:34 Step 6 Source attribution ...
04/07/23 15:07:34 Step 7 Data statistics ...
04/07/23 15:09:11 Step 8 Generating results file ...
```

**Figure 10:** Illustration of the pipeline while running. Each sample, step and corresponding starting time are indicated in order to follow the progress.



# Day 4 - Pipeline analyses workflow

 5 secs

**01**

Data  
cleaning



Sickle

*Default  
parameters*




# Day 4 - Pipeline analyses workflow

**01**  
Data  
cleaning



Sickle

 2 to 30 mins

**02**  
Genome  
assembly

ATCG

SPAdes

--minimum contig  
length **200**  
--minimum contig  
coverage **5 or 20**  
(depending on data)



# Day 4 - Pipeline analyses workflow

**01**  
Data  
cleaning



Sickle

**02**  
Genome  
assembly

ATCG

SPAdes

 3 mins

**03**  
AMR  
finding

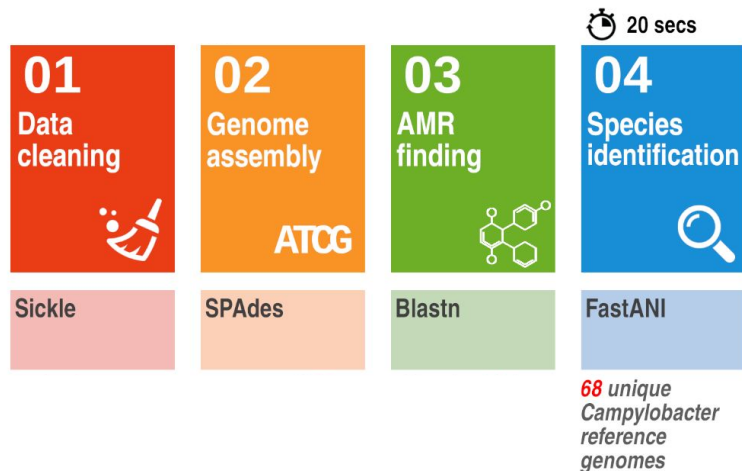


Blastn

*--identity 90%*  
*--coverage 90%*



# Day 4 - Pipeline analyses workflow



# Day 4 - Pipeline analyses workflow





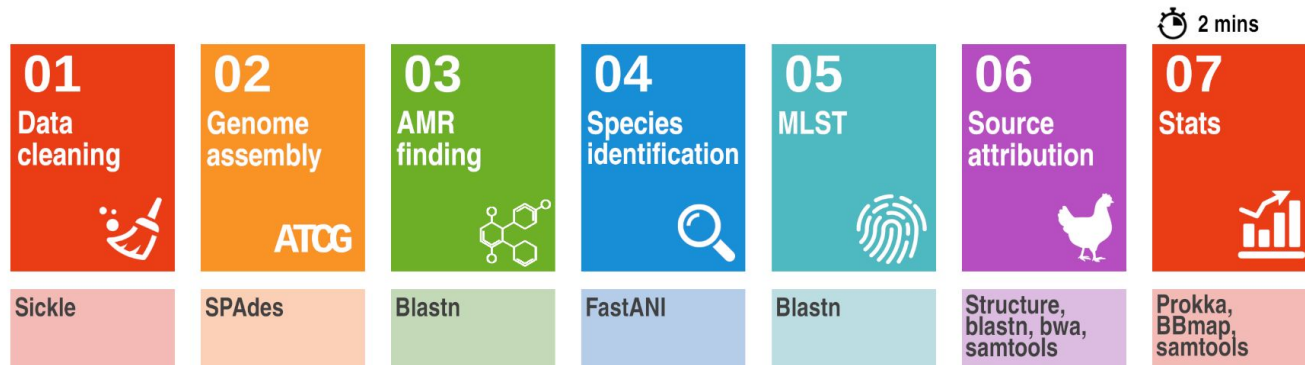
# Day 4 - Pipeline analyses workflow



<sup>1</sup> Jehanne *et al.* Genome-Wide Identification of Host-Segregating Single-Nucleotide Polymorphisms for Source Attribution of Clinical *Campylobacter coli* Isolates. *Appl Environ Microbiol.* 2020.

<sup>2</sup> Thépault *et al.* Genome-Wide Identification of Host-Segregating Epidemiological Markers for Source Attribution in *Campylobacter jejuni*. *Appl Environ Microbiol.* 2017.

# Day 4 - Pipeline analyses workflow



# Day 4 - Pipeline analyses workflow

**01**  
Data  
cleaning



Sickle

**02**  
Genome  
assembly

ATCG

SPAdes

**03**  
AMR  
finding



Blastn

**04**  
Species  
identification



FastANI

**05**  
MLST



Blastn

**06**  
Source  
attribution



Structure,  
blastn, bwa,  
samtools

**07**  
Stats



Prokka,  
BBmap,  
samtools

 20 secs








**08**  
Report  
generating



PyPDF



# Day 4 - How AMR finding works?

<b>01</b> Data cleaning 	<b>02</b> Genome assembly  ATCG	<b>03</b> AMR finding 	<b>04</b> Species identification 	<b>05</b> MLST 	<b>06</b> Source attribution 	<b>07</b> Stats 	<b>08</b> Report generating 
Sickle	SPAdes	<b>Blastn</b>	FastANI	Blastn	Structure, blastn, bwa, samtools	Prokka, BBmap, samtools	PyPDF



# Day 4 - Home-made Python script and Blast

1. (optional) Retrieve all AMR genes sequences from **NRCCH**, **CARD**, **NCBI**, **RESFINDER**, **PLASMIDFINDER**, **VFDB** and **VIRULENCEFINDER** databases. Pairwise comparison of all sequences to remove duplicates (ex. *ant(6)-Ia* = *aadE*).
2. Blastn or blastp of all sequences (**n = 20,000**) on fasta genome.
3. For multiple hits for one genomic region, it keeps the best score (similar genes are removed, ex. *bla<sub>oxa</sub>*).
4. Hits are aligned to references in order to identify any point mutations.



# Day 4 - Home-made Python script : pros

1. Blast is **no resource-consuming** (ex. ARIBA or similar can crash).
2. **No duplicate results**, specially about *bla<sub>oxa</sub>* and *tet* genes.
3. Gives information about **chromosomal** or **plasmid** resistance.
4. Gives information on **positions** and therefore resistance **islands**.
5. **Perfect** results for point **mutations** finding (issues occurred with PointFinder).
6. Take into account **truncated** genes.



# Day 4 - Analyses report preview



**CENTRE  
HOSPITALIER  
UNIVERSITAIRE  
BORDEAUX**

Centre National de Référence des Campylobacters & Helicobacters  
Laboratoire de Microbiologie  
CHU Pellegrin  
Place André Raba Léon  
33076 Bordeaux cedex 7  
Tel: +33 (0)5 56 79 39 77  
Fax: +33 (0)5 56 79 39 77



**Santé  
publique  
France**

Informations patient		Informations sur le séquençage	
ID de la souche	P2_066	Sexe	M
Nom	[REDACTED]	Code postal	[REDACTED]
Prénom	[REDACTED]	Date de prélèvement	-
Date de naissance	-	Nature	-
Age	16		
		Nom du run	0020-INTEGRAGEN-2022-P2
		Société	INTEGRAGEN
		Séquenceur	Nova Seq 6000
		Mois	Octobre
		Année	2022

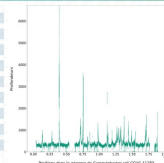
Identification de l'espèce, typage moléculaire et attribution de la source de contamination			
Espèce identifiée par ANI (référence)	Complexe clonal (CC)	828	Source de contamination potentielle
<b>CAMPYLOBACTER COLI/CCUG 11283</b>	Sequence type (ST)	899	<b>VOLAILE</b>
Score ANI (significativité ≥ 95%)	aspA ; glnA ; pflA ; glyA ; pgm ; htr ; uncA		Score d'attribution (significativité ≥ 70%)
98.707 %	33 ; 39 ; 30 ; 82 ; 113 ; 35 ; 17		99.2 %

Détermination moléculaire de la résistance aux antibiotiques																																																																																																							
Principaux antibiotiques et mécanismes de résistance correspondants		Autres mécanismes de résistance ou virulence identifiés																																																																																																					
<p><b>OXAZE G6BT</b></p> <p>Contig 4 - 99.4% IDT - 100.0% COV Positions [ 40722 - 41078 ]</p> <p><b>GlyA T86I</b></p> <p>Contig 1 - 99.9% IDT - 99.1% COV Positions [ 418358 - 418898 ]</p> <p><b>ermM</b></p> <p>Contig 7 - 100.0% IDT - 100.0% COV Positions [ 43766 - 43768 ]</p> <p><b>htrD</b></p> <p>Contig 3 - 99.4% IDT - 100.0% COV Positions [ 110875 - 112794 ]</p>	<p><b>gcbC</b></p> <p><b>gcbD</b></p> <p><b>gcbE</b></p> <p><b>gcbF</b></p> <p><b>gcbG</b></p> <p><b>gcbH</b></p> <p><b>gcbI</b></p> <p><b>gcbJ</b></p> <p><b>gcbK</b></p> <p><b>gcbL</b></p> <p><b>gcbM</b></p> <p><b>gcbN</b></p> <p><b>gcbO</b></p> <p><b>gcbP</b></p> <p><b>gcbQ</b></p> <p><b>gcbR</b></p> <p><b>gcbS</b></p> <p><b>gcbT</b></p> <p><b>gcbU</b></p> <p><b>gcbV</b></p> <p><b>gcbW</b></p> <p><b>gcbX</b></p> <p><b>gcbY</b></p> <p><b>gcbZ</b></p>	<p>Rés de données de ATB correspondant</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; font-size: small;"> <thead> <tr> <th>MARQUEUR</th><th>CTG</th><th>IDT</th><th>COV</th><th>POSITIONS</th></tr> </thead> <tbody> <tr><td>gcbC CARD</td><td>CXA_103.248147L...</td><td>4</td><td>100.0</td><td>18941-18944</td></tr> <tr><td>Violence</td><td>gcbC_VF00001871L...</td><td>3</td><td>82.8</td><td>100.0</td><td>18989-18978</td></tr> <tr><td>Violence</td><td>gcbC_VF00001872L...</td><td>3</td><td>82.4</td><td>99.7</td><td>18988-18984</td></tr> <tr><td>Violence</td><td>gcbC_VF00001873L...</td><td>2</td><td>95.5</td><td>100.0</td><td>18984-18925</td></tr> <tr><td>Violence</td><td>gcbC_VF00001874L...</td><td>2</td><td>83.2</td><td>100.0</td><td>18985-18981</td></tr> <tr><td>Violence</td><td>gcbC_VF00001875L...</td><td>2</td><td>95.7</td><td>100.0</td><td>18986-18983</td></tr> <tr><td>Violence</td><td>gcbC_VF00001876L...</td><td>2</td><td>86.4</td><td>99.2</td><td>18987-18926</td></tr> <tr><td>Violence</td><td>gcbC_VF00001877L...</td><td>2</td><td>97.2</td><td>100.0</td><td>18988-18928</td></tr> <tr><td>Violence</td><td>gcbC_VF00001878L...</td><td>1</td><td>95.1</td><td>100.0</td><td>18989-18943</td></tr> <tr><td>Violence</td><td>gcbC_VF00001879L...</td><td>1</td><td>100.0</td><td>100.0</td><td>18990-18984</td></tr> <tr><td>Violence</td><td>gcbC_VF00001880L...</td><td>7</td><td>82.1</td><td>100.0</td><td>18990-18979</td></tr> <tr><td>Violence</td><td>gcbC_VF00001881L...</td><td>1</td><td>95.5</td><td>100.0</td><td>18991-18981</td></tr> <tr><td>Violence</td><td>gcbC_VF00001882L...</td><td>2</td><td>82.8</td><td>100.0</td><td>18992-18987</td></tr> <tr><td>Violence</td><td>gcbC_VF00001883L...</td><td>2</td><td>86.8</td><td>100.0</td><td>18993-18991</td></tr> <tr><td>Violence</td><td>gcbC_VF00001884L...</td><td>1</td><td>86.8</td><td>100.0</td><td>18994-18929</td></tr> <tr><td>Violence</td><td>gcbC_VF00001885L...</td><td>1</td><td>84.7</td><td>100.0</td><td>18995-18929</td></tr> </tbody> </table>	MARQUEUR	CTG	IDT	COV	POSITIONS	gcbC CARD	CXA_103.248147L...	4	100.0	18941-18944	Violence	gcbC_VF00001871L...	3	82.8	100.0	18989-18978	Violence	gcbC_VF00001872L...	3	82.4	99.7	18988-18984	Violence	gcbC_VF00001873L...	2	95.5	100.0	18984-18925	Violence	gcbC_VF00001874L...	2	83.2	100.0	18985-18981	Violence	gcbC_VF00001875L...	2	95.7	100.0	18986-18983	Violence	gcbC_VF00001876L...	2	86.4	99.2	18987-18926	Violence	gcbC_VF00001877L...	2	97.2	100.0	18988-18928	Violence	gcbC_VF00001878L...	1	95.1	100.0	18989-18943	Violence	gcbC_VF00001879L...	1	100.0	100.0	18990-18984	Violence	gcbC_VF00001880L...	7	82.1	100.0	18990-18979	Violence	gcbC_VF00001881L...	1	95.5	100.0	18991-18981	Violence	gcbC_VF00001882L...	2	82.8	100.0	18992-18987	Violence	gcbC_VF00001883L...	2	86.8	100.0	18993-18991	Violence	gcbC_VF00001884L...	1	86.8	100.0	18994-18929	Violence	gcbC_VF00001885L...	1	84.7	100.0	18995-18929	
MARQUEUR	CTG	IDT	COV	POSITIONS																																																																																																			
gcbC CARD	CXA_103.248147L...	4	100.0	18941-18944																																																																																																			
Violence	gcbC_VF00001871L...	3	82.8	100.0	18989-18978																																																																																																		
Violence	gcbC_VF00001872L...	3	82.4	99.7	18988-18984																																																																																																		
Violence	gcbC_VF00001873L...	2	95.5	100.0	18984-18925																																																																																																		
Violence	gcbC_VF00001874L...	2	83.2	100.0	18985-18981																																																																																																		
Violence	gcbC_VF00001875L...	2	95.7	100.0	18986-18983																																																																																																		
Violence	gcbC_VF00001876L...	2	86.4	99.2	18987-18926																																																																																																		
Violence	gcbC_VF00001877L...	2	97.2	100.0	18988-18928																																																																																																		
Violence	gcbC_VF00001878L...	1	95.1	100.0	18989-18943																																																																																																		
Violence	gcbC_VF00001879L...	1	100.0	100.0	18990-18984																																																																																																		
Violence	gcbC_VF00001880L...	7	82.1	100.0	18990-18979																																																																																																		
Violence	gcbC_VF00001881L...	1	95.5	100.0	18991-18981																																																																																																		
Violence	gcbC_VF00001882L...	2	82.8	100.0	18992-18987																																																																																																		
Violence	gcbC_VF00001883L...	2	86.8	100.0	18993-18991																																																																																																		
Violence	gcbC_VF00001884L...	1	86.8	100.0	18994-18929																																																																																																		
Violence	gcbC_VF00001885L...	1	84.7	100.0	18995-18929																																																																																																		

Statistiques sur les données de séquençage et le génome assemblé			
Reads bruts (R1)	2,361,310	Taille mappant sur la référence	1,574,428 pb
Reads bruts (R2)	2,361,310	Taille de la référence	1,914,845 pb
Taille totale (R1)	354,196,500 pb	Génome couvert à	82.222 %
Taille totale (R2)	354,196,500 pb	Profondeur moyenne	189.0
		Taille du génome assemblé	1,655,286 pb
Reads nettoyés (R1)	2,319,381	Nombre total de contigs	12
Reads nettoyés (R2)	2,319,381	Taille moyenne des contigs	137,940 pb
Taille nettoyée (R1)	347,066,885 pb	GC %	34.0 %
Taille nettoyée (R2)	340,268,738 pb	Nombre de CDS	1,677



Notes: les données de couverture ont été lues.

Rapport généré par le Centre National de Référence des Campylobacters & Helicobacters à Bordeaux le 03/10/2022 à 22:03:22





# Day 4 - Analyses report preview



**CENTRE  
HOSPITALIER  
UNIVERSITAIRE  
BORDEAUX**

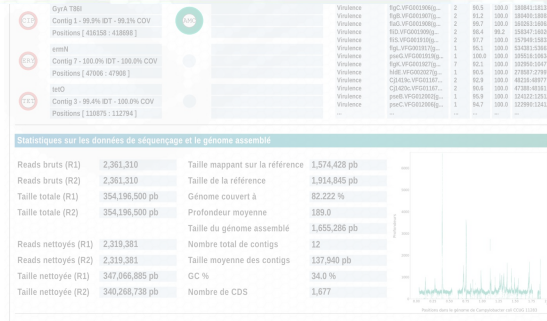
Centre National de Référence des Campylobacters & Hélicobacters  
Laboratoire de Bactériologie  
CHU Pellegrin  
Place Amélie Raba Léon  
33076 Bordeaux cedex

Tél: +33 (0)5 56 79 59 77  
Fax: +33 (0)5 57 82 19 77



Informations patient				Informations sur le séquençage	
ID de la souche	P2_066	Sexe	M	Nom du run	0020-INTEGRAGEN-2022-P2
Nom	[REDACTED]	Code postal	[REDACTED]	Société	INTEGRAGEN
Prénom	[REDACTED]	Date de prélèvement	-	Séquenceur	Nova Seq 6000
Date de naissance	-	Nature	-	Mois	Octobre
Age	16			Année	2022

Dates and patient informations



# Day 4 - Analyses report preview

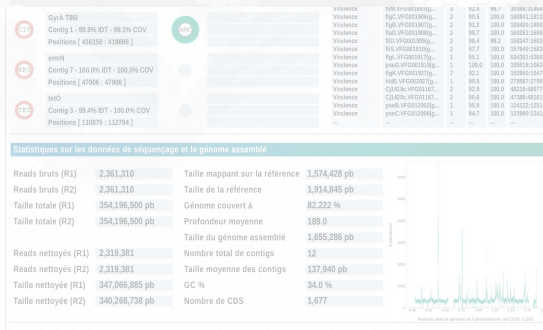
Species identification,  
MLST and source  
attribution



Informations patient		Informations sur le séquençage	
ID de la souche	P2_066	Sexe	M
Nom	[REDACTED]	Code postal	[REDACTED]
Prénom	[REDACTED]	Date de prélèvement	-
		Nom du run	0020-INTEGRAGEN-2022-P2
		Société	INTEGRAGEN
		Séquenceur	Nova Seq 6000

## Identification de l'espèce, typage moléculaire et attribution de la source de contamination

Espèce identifiée par ANI (référence)	Complexe clonal (CC) <b>828</b>	Source de contamination potentielle
<b>CAMPYLOBACTER COLI CCUG 11283</b>	Sequence type (ST) <b>899</b>	<b>VOLAILE</b>
Score ANI (significativité ≥ 95%)	<i>aspA</i> ; <i>glnA</i> ; <i>gltA</i> ; <i>glyA</i> ; <i>pgm</i> ; <i>tkf</i> ; <i>uncA</i>	Score d'attribution (significativité ≥ 70%)
<b>98.707 %</b>	<b>33 ; 39 ; 30 ; 82 ; 113 ; 35 ; 17</b>	<b>99.2 %</b>



# Day 4 - Analyses report preview



Informations patient		Informations sur le séquençage	
ID de la souche	P2_066	Sexe	M
Nom	[REDACTED]	Code postal	[REDACTED]
Prénom	[REDACTED]	Date de prélèvement	-
Date de naissance	-	Nature	-
Age	38		
		Nom du run	0020-INTEGRAGEN-2022-P2
		Société	INTEGRAGEN
		Séquenceur	Nova Seq 6000
		Mois	Octobre
		Année	2022

## Détermination moléculaire de la résistance aux antibiotiques

### Principaux antibiotiques et mécanismes de résistance correspondants

<b>AMP</b>	<b>OXA61 G63T</b> Contig 4 - 99.4% IDT - 100.0% COV Positions [ 40722 : 41078 ]	<b>GEN</b>	
<b>CIP</b>	<b>GyrA T86I</b> Contig 1 - 99.9% IDT - 99.1% COV Positions [ 416158 : 418698 ]	<b>AMC</b>	
<b>ERY</b>	<b>ermN</b> Contig 7 - 100.0% IDT - 100.0% COV Positions [ 47006 : 47908 ]		
<b>TET</b>	<b>tetO</b> Contig 3 - 99.4% IDT - 100.0% COV Positions [ 110875 : 112794 ]		

### Autres mécanismes de résistance ou virulence identifiés

Base de données ou ATB correspondant	MARQUEUR	CTG	IDT	COV	POSITIONS
(DB) CARD	OXA-193.3001478...	4	100.0	100.0	40841-41614
Virulence	flgE.VFG001891(g...	3	92.9	100.0	18089-19726
Virulence	flhM.VFG001893(g...	3	92.4	99.7	30388-31464
Virulence	flgC.VFG001906(g...	2	90.5	100.0	180841-181335
Virulence	flgB.VFG001907(g...	2	81.2	100.0	180400-180831
Virulence	flaG.VFG001908(g...	2	99.7	100.0	160263-160628
Virulence	flfD.VFG001909(g...	2	98.4	99.2	158347-160260
Virulence	flfS.VFG001910(g...	2	97.7	100.0	157949-158335
Virulence	flgL.VFG001917(g...	1	95.1	100.0	534381-536633
Virulence	pseG.VFG001919(g...	1	100.0	100.0	105516-106340
Virulence	flgK.VFG001927(g...	7	92.1	100.0	102950-104776
Virulence	hldE.VFG002027(g...	1	90.5	100.0	278587-279972
Virulence	Cj1419c.VFG01167...	2	92.9	100.0	48216-48977
Virulence	Cj1420c.VFG01167...	2	90.6	100.0	47388-48161
Virulence	pseB.VFG012002(g...	1	95.9	100.0	124122-125126
Virulence	pseC.VFG012006(g...	1	94.7	100.0	122990-124120

AMR and virulence finding

Taille du génome assemblé	1,655,286 pb
Reads nettoyés (R1)	2,319,381
Reads nettoyés (R2)	2,319,381
Taille moyenne des contigs	137,940 pb
Taille nettoyée (R1)	347,066,885 pb
Taille nettoyée (R2)	340,268,738 pb
Nombre total de contigs	12
Taille moyenne des contigs	137,940 pb
GC %	34.0 %
Nombre de CDS	1,677

Rapport généré par le Centre National de Référence des Campylobactéries et Helicobactéries à Bordeaux le 20221002 à 20:03:22



# Day 4 - Analyses report preview



Informations patient		Informations sur le séquençage	
ID de la souche	P2_066	Sexe	M
Nom	[REDACTED]	Code postal	[REDACTED]
Prénom	[REDACTED]	Date de prélèvement	-
Date de naissance	-	Nature	-
Age	38		
		Nom du run	0020-INTEGRAGEN-2022-P2
		Société	INTEGRAGEN
		Séquenceur	Nova Seq 6000
		Mois	Octobre
		Année	2022

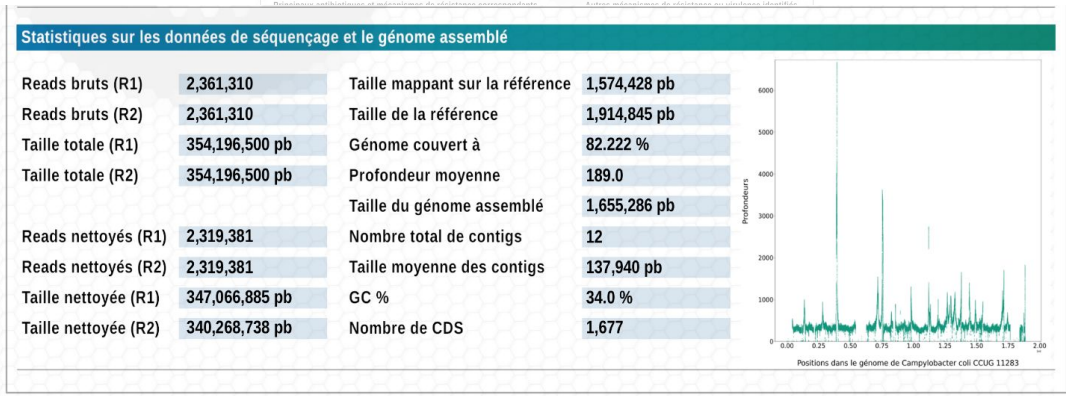
Identification de l'espèce, typage moléculaire et attribution de la source de contamination		
Espèce identifiée par ANI (référence)	Complexe clonal (CC)	828
CAMPYLOBACTER COLI/CCUG 11203	Sequense type (ST)	899
Score ANI (significativité ≥ 95%)	aspA ; glnA ; pflA ; gtyA ; pgm ; flx ; uncA	Score d'attribution (significativité ≥ 70%)
98.707 %	33 ; 38 ; 36 ; 82 ; 113 ; 35 ; 17	99.2 %

Détermination moléculaire de la résistance aux antibiotiques	
Résistance moléculaire et interprétation de référence correspondante	Autres mécanismes de résistance au chloramphénicol



Raw data and genome  
information



# RT1-WGS-AMR *Campylobacter* isolates

1. *C. coli* ST-832 (SRR21798666)
2. *C. coli* ST-8195 (SRR21798667)
3. *C. jejuni* ST-464 (SRR21798668)
4. *C. jejuni* ST-19 (SRR21798669)

## *C. jejuni* ST-464 results

% participants

<b><i>blaOXA</i></b>	5
<b><i>blaOXA-193</i></b>	42
<b><i>blaOXA-461</i></b>	5
<b><i>OXA-660</i></b>	5
<b><i>tet(O)</i></b>	21
<b><i>tet(O/32/O)</i></b>	84
<b><i>tet(O/M/O)</i></b>	5
<b>GyrA T86I</b>	74



# C. jejuni ST-464 results

	% participants
<i>blaOXA</i>	5
<i>blaOXA-193</i>	42
<i>blaOXA-461</i>	5
<i>OXA-660</i>	5
<i>tet(O)</i>	21
<i>tet(O/32/O)</i>	84
<i>tet(O/M/O)</i>	5
<i>GyrA T86I</i>	74

Identification de l'espèce, typage moléculaire et attribution de la source de contamination		
Espèce identifiée par ANI (référence)	Complexe clonal (CC)	464
<i>CAMPYLOBACTER JEJUNI NCTC113...</i>	Sequence type (ST)	464
Score ANI (significativité ≥ 95%)	<i>aspA</i> ; <i>glnA</i> ; <i>gltA</i> ; <i>glyA</i> ; <i>pgm</i> ; <i>tkt</i> ; <i>unca</i>	Score d'attribution (significativité ≥ 70%)
97.701 %	24 ; 2 ; 2 ; 2 ; 10 ; 3 ; 1	100.0 %
		<b>VOLAILLE</b>

Détermination moléculaire de la résistance aux antibiotiques								
Principaux antibiotiques et mécanismes de résistance correspondants		Autres mécanismes de résistance ou virulence identifiés						
		Base de données ou ATB correspondant	MARQUEUR	CTG	IDT	COV	POSITIONS	
AMP <sup>r</sup>	OXA61 G63T	GEN <sup>r</sup>	(DB) CARD	cmeC.3000785.AB8...	4	98.6	99.9	61543:63020
	Contig 43 - 99.7% IDT - 100.0% COV		(DB) CARD	cmeA.3000783.CP0...	4	94.0	99.1	57328:58421
	Positions [ 3752 : 4108 ]		(DB) CARD	cmeR.3000526.AL1...	4	94.8	100.0	56601:57233
CIP <sup>r</sup>	GyrA T86I	AMC <sup>r</sup>	Virulence	flgD.VFG001890(g...	9	99.9	100.0	16971:17855
	Contig 23 - 99.2% IDT - 98.7% COV		Virulence	flgE.VFG001891(g...	9	99.9	100.0	17859:19496
	Positions [ 17323 : 19878 ]		Virulence	fljY.VFG001892(g...	9	99.9	100.0	29219:30061
ERY <sup>r</sup>			Virulence	fljH.VFG001894(g...	9	99.9	100.0	31137:31853
			Virulence	fljF.VFG001895(g...	9	100.0	100.0	33044:34498
			Virulence	fljI.VFG001896(g...	10	98.6	100.0	41570:42955
TET <sup>r</sup>			Virulence	fljF.VFG001897(g...	4	99.8	100.0	104005:105687
			Virulence	fljG.VFG001898(g...	4	99.9	100.0	102977:104005
			Virulence	fljH.VFG001899(g...	4	99.4	100.0	102139:102969
			Virulence	fljB.VFG001900(g...	4	99.7	100.0	89959:91047
	<i>tet(O-32-O)</i> .4_AIOQ01000025		Virulence	motB.VFG001901(g...	4	98.7	100.0	89210:89953
	Contig 5 - 100.0% IDT - 100.0% COV		Virulence	motA.VFG001902(g...	4	98.2	100.0	88431:89207
	Positions [ 27636 : 29555 ]		Virulence	fljN.VFG001903(g...	4	99.0	100.0	72592:72900
			...	...	...	...	...	

✘ Zeng *et al.* A single nucleotide in the promoter region modulates the expression of the  $\beta$ -lactamase OXA-61 in *Campylobacter jejuni*. J Antimicrob Chemother. 2014.



# Resistances among +1300 *Campylobacter* isolates from 2017

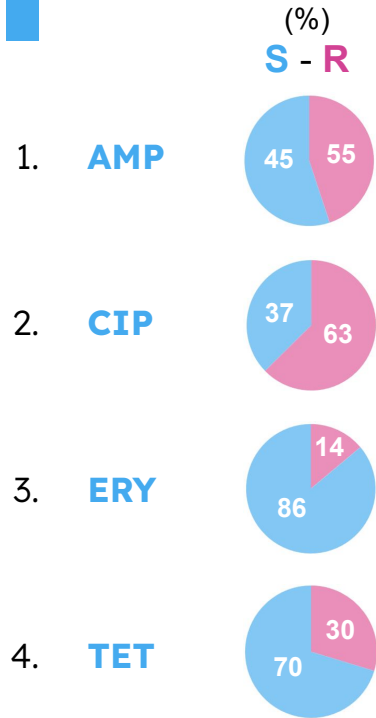
1. **AMP**

2. **CIP**

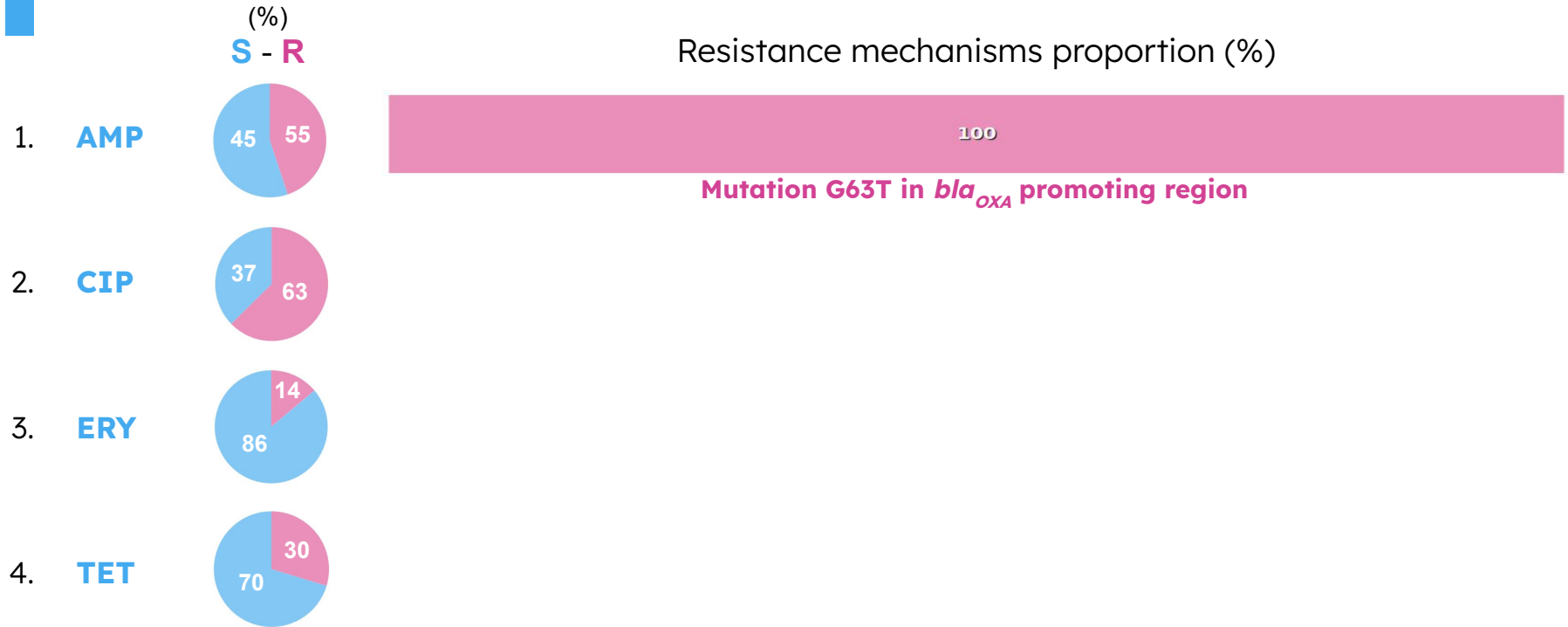
3. **ERY**

4. **TET**

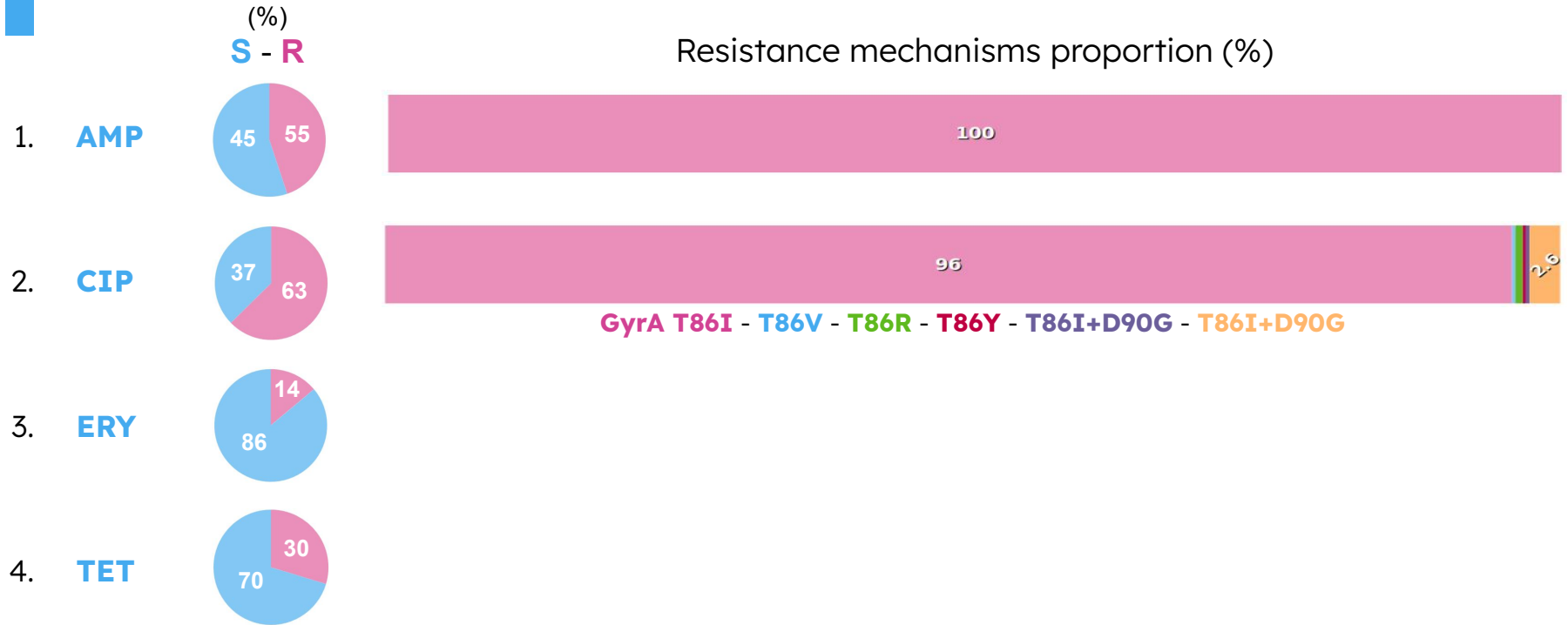
# Resistances among +1300 *Campylobacter* isolates from 2017



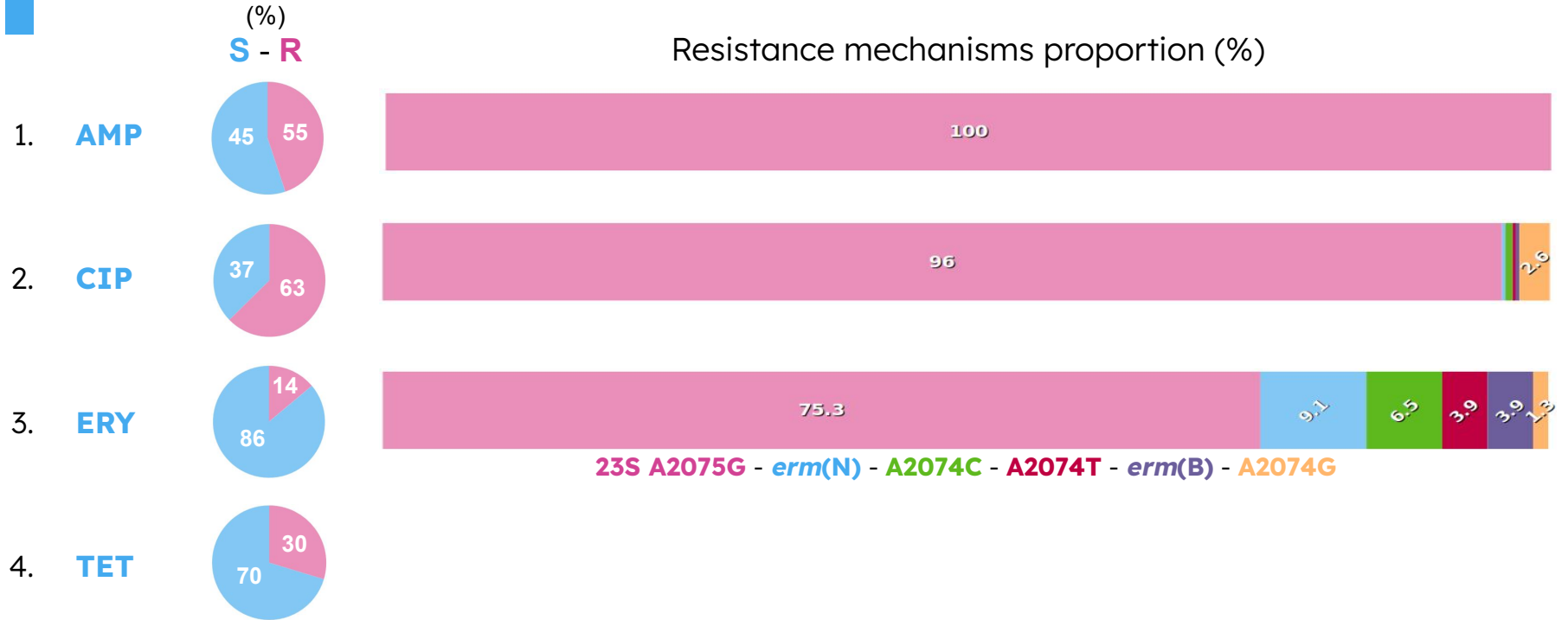
# Resistances among +1300 *Campylobacter* isolates from 2017



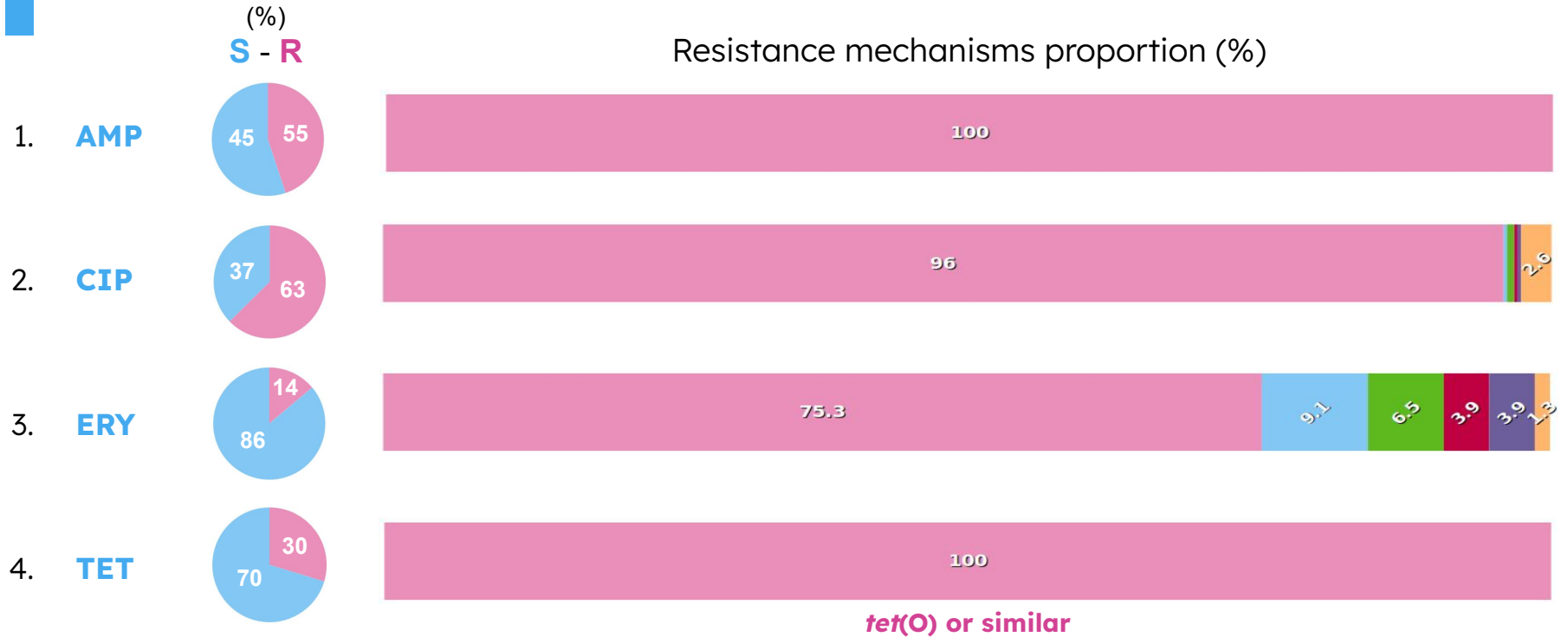
# Resistances among +1300 *Campylobacter* isolates from 2017



# Resistances among +1300 *Campylobacter* isolates from 2017



# Resistances among +1300 *Campylobacter* isolates from 2017



# Conclusion : since the workflow implementation ..

- It is used routinely and easily for every suspicious isolates (notably ERY-R and AMC-R *Campylobacter*).
- Reports are sent to every corresponding hospitals and medical laboratories.
- It helped to identify :
  - New resistance mechanisms
  - New species



## Emergence of Erythromycin Resistance Methyltransferases in *Campylobacter coli* Strains in France

Quentin Jehanne<sup>a,b</sup>, Lucie Bénéjat<sup>a</sup>, Astrid Ducournau<sup>a</sup>, Chloé Domingues-Martins<sup>a</sup>, Théo Cousinou<sup>a</sup>, Emilie Bessède<sup>a,b</sup>, and Philippe Lehours<sup>a,b</sup>

MECHANISMS OF RESISTANCE  
November 2021 Volume 65 Issue 11 e01124-21  
<https://doi.org/10.1128/AAC.01124-21>



ORIGINAL RESEARCH  
published: 06 December 2019  
doi: 10.3389/fmicb.2019.02920

## Whole-Genome Sequencing and Bioinformatics as Pertinent Tools to Support *Helicobacteraceae* Taxonomy, Based on Three Strains Suspected to Belong to Novel *Helicobacter* Species

Elvire Berthene<sup>1,2\*</sup>, Lucie Bénéjat<sup>1\*</sup>, Armelle Ménard<sup>2</sup>, Christine Varon<sup>2</sup>, Sabrina Lacomme<sup>1</sup>, Etienne Gontier<sup>2</sup>, Josette Raymond<sup>1</sup>, Ouahiba Boussaba<sup>1</sup>, Olivier Toulza<sup>2</sup>, Astrid Ducournau<sup>1</sup>, Alice Buissonnière<sup>1</sup>, Alban Giese<sup>2</sup>, Francis Megraud<sup>1,2</sup>, Emilie Bessède<sup>1,2</sup>, Quentin Jehanne<sup>1,2</sup> and Philippe Lehours<sup>1,2\*</sup>

# Thanks for your attention



STATENS  
SERUM  
INSTITUT





# C. coli ST-832 results

% participants

<b><i>aad9</i></b>	16
<b><i>aadE</i></b>	26
<b><i>ant(6)-Ia</i></b>	74
<b><i>blaOXA-193</i></b>	84
<b><i>blaOXA-450</i></b>	5
<b><i>blaOXA-451</i></b>	5
<b><i>blaOXA-452</i></b>	5
<b><i>blaOXA-453</i></b>	5
<b><i>blaOXA-489</i></b>	11
<b><i>blaOXA-61</i></b>	32
<b><i>tet(O)</i></b>	37
<b><i>tet(O/32/O)</i></b>	11
<b><i>tet(O/M/O)</i></b>	5
<b>GyrA T86I</b>	79

## Identification de l'espèce, typage moléculaire et attribution de la source de contamination

Espèce identifiée par ANI (référence) <b>CAMPYLOBACTER COLI CCUG 11283</b>	Complexe clonal (CC) <b>828</b>	Source de contamination potentielle <b>VOLAILLE</b>
Score ANI (significativité ≥ 95%) <b>98.421 %</b>	Sequence type (ST) <b>832</b>	Score d'attribution (significativité ≥ 70%) <b>100.0 %</b>
	<i>aspA</i> ; <i>glnA</i> ; <i>gltA</i> ; <i>glyA</i> ; <i>pgm</i> ; <i>tkt</i> ; <i>unca</i> <b>33 ; 39 ; 30 ; 79 ; 113 ; 43 ; 17</b>	

## Détermination moléculaire de la résistance aux antibiotiques

### Principaux antibiotiques et mécanismes de résistance correspondants

<b>AMP<sup>?</sup></b>	<b>OXA61 G63T</b> Contig 3 - 99.7% IDT - 100.0% COV Positions [ 94177 ; 94533 ]	<b>GEN<sup>?</sup></b>	<b>AAC(3)</b> Contig 1 - 99.9% IDT - 100.0% COV Positions [ 343066 ; 343809 ]
<b>CIP<sup>?</sup></b>	<b>GyrA T86I</b> Contig 1 - 99.9% IDT - 99.1% COV Positions [ 57141 ; 59681 ]	<b>AMC<sup>?</sup></b>	
<b>ERY<sup>?</sup></b>			
<b>TE1<sup>?</sup></b>	<b>tetO</b> Contig 5 - 99.5% IDT - 100.0% COV Positions [ 60548 ; 62467 ]		

### Autres mécanismes de résistance ou virulence identifiés

Base de données ou ATB correspondant	MARQUEUR	CTG	IDT	COV	POSITIONS
(DB) CARD	OXA-193.3001478...	3	100.0	100.0	94296:95069
(DB) CARD	cmeB.3000784.CPO...	3	91.8	100.0	156007:159129
Streptomycine	ANT(6)-If-aadE	5	100.0	100.0	56940:57806
Spectinomycine	ANT(9)-Ic-aad9	5	99.7	100.0	58727:59504
Virulence	figE.VFG001891(g...	10	93.0	100.0	20299:21936
Virulence	flhI.VFG001893(g...	5	92.6	99.7	140244:141320
Virulence	figC.VFG001906(g...	2	90.5	100.0	82527:83021
Virulence	flgB.VFG001907(g...	2	91.0	100.0	83031:83462
Virulence	flaG.VFG001908(g...	2	98.6	100.0	103234:103599
Virulence	flhD.VFG001909(g...	2	96.7	99.4	103602:105518
Virulence	flhS.VFG001910(g...	2	99.5	100.0	105530:105916
Virulence	flgL.VFG001917(g...	7	94.1	100.0	79174:81426
Virulence	pseF.VFG0012009(g...	11	99.4	100.0	19541:20239
Virulence	ptmB.VFG001921(g...	11	97.9	100.0	4908:5615
Virulence	ptmA.VFG001922(g...	11	97.5	100.0	4138:4908
Virulence	flgK.VFG001927(g...	4	91.6	100.0	111194:113020
...	...	...	...	...	...

# C. coli ST-8195 results

% participants







<i>blaOXA</i>	5
<i>blaOXA-193</i>	79
<i>blaOXA-450</i>	5
<i>blaOXA-451</i>	5
<i>blaOXA-453</i>	5
<i>blaOXA-489</i>	11
<i>blaOXA-61</i>	32
<i>tet(O)</i>	21
<i>tet(O/32/O)</i>	84
<i>tet(O/M/O)</i>	5
GyrA T86I	84

## Identification de l'espèce, typage moléculaire et attribution de la source de contamination

Espèce identifiée par ANI (référence)	Complexe clonal (CC)	828	Source de contamination potentielle
<b>CAMPYLOBACTER COLI LMG 9860</b>	Sequence type (ST)	8195	<b>VOLAILLE</b>
Score ANI (significativité ≥ 95%)	<i>aspA</i> ; <i>glnA</i> ; <i>gltA</i> ; <i>glyA</i> ; <i>pgm</i> ; <i>tkt</i> ; <i>uncA</i>		Score d'attribution (significativité ≥ 70%)
98.701 %	33 ; 39 ; 30 ; 677 ; 104 ; 206 ; 17		100.0 %

## Détermination moléculaire de la résistance aux antibiotiques

### Principaux antibiotiques et mécanismes de résistance correspondants

			
	GyrA T86I Contig 1 - 99.9% IDT - 99.1% COV Positions [ 123224 : 125764 ]		
			
	<i>tet(O-32-O)</i> _4_AIOQ01000025 Contig 3 - 99.8% IDT - 100.0% COV Positions [ 173465 : 175384 ]		

### Autres mécanismes de résistance ou virulence identifiés

Base de données ou ATB correspondant	MARQUEUR	CTG	IDT	COV	POSITIONS
(DB) CARD	OXA-193.3001478...	6	100.0	100.0	41052-41825
Virulence	flgE.VFG001891(g...	5	92.9	100.0	150024-151661
Virulence	fljM.VFG001893(g...	5	92.4	99.7	138602-139678
Virulence	flgC.VFG001906(g...	2	90.5	100.0	92087-92581
Virulence	flgB.VFG001907(g...	2	91.2	100.0	92591-93022
Virulence	flaG.VFG001908(g...	2	98.9	99.5	112794-113157
Virulence	fliD.VFG001909(g...	2	98.0	100.0	113162-115090
Virulence	fliS.VFG001910(g...	2	97.9	100.0	115102-115488
Virulence	flgL.VFG001917(g...	1	96.8	100.0	5130-7382
Virulence	pseG.VFG001919(g...	7	96.2	99.0	18181-18997
Virulence	flgK.VFG001927(g...	3	93.9	100.0	83197-85023
Virulence	pseB.VFG012002(g...	7	95.5	100.0	35571-36575
Virulence	pseC.VFG012006(g...	7	93.2	100.0	34440-35570
Virulence	cheA.VFG043394(g...	6	90.1	99.4	26400-28694
Virulence	fljM.VFG043405(g...	3	98.5	100.0	85510-85707

# C. jejuni ST-19 results

% participants

<i>blaOXA</i>	5
<i>blaOXA-193</i>	89
<i>blaOXA-450</i>	5
<i>blaOXA-451</i>	5
<i>blaOXA-452</i>	5
<i>blaOXA-453</i>	5
<i>blaOXA-489</i>	16
<i>blaOXA-61</i>	32
<i>tet(O)</i>	5
GyrA T86I	95

## Identification de l'espèce, typage moléculaire et attribution de la source de contamination

Espèce identifiée par ANI (référence) <b>CAMPYLOBACTER JEJUNI NCTC113...</b>	Complexe clonal (CC) <b>21</b>	Source de contamination potentielle <b>VOLAILLE</b>
Score ANI (significativité ≥ 95%) <b>97.672 %</b>	Sequence type (ST) <b>19</b> <i>aspA ; glnA ; gltA ; glyA ; pgm ; tkt ; unca</i> <b>2 ; 1 ; 5 ; 3 ; 2 ; 1 ; 5</b>	Score d'attribution (significativité ≥ 70%) <b>100.0 %</b>

## Détermination moléculaire de la résistance aux antibiotiques

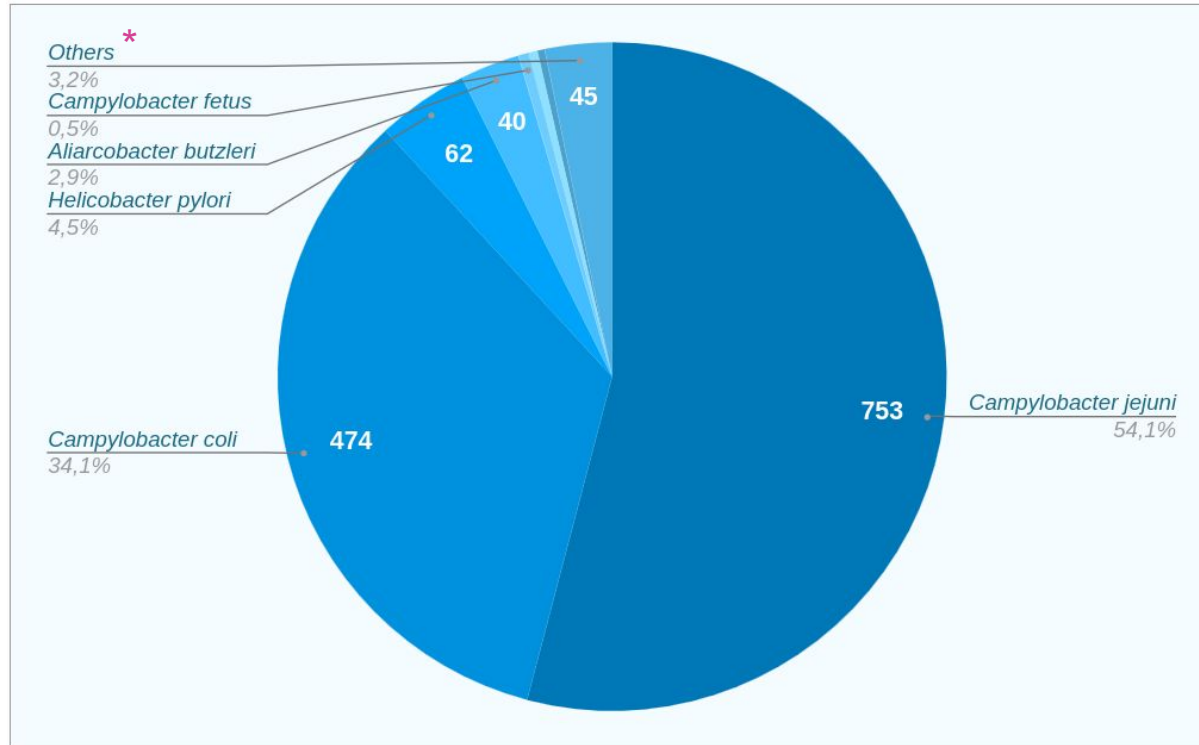
### Principaux antibiotiques et mécanismes de résistance correspondants

AMP <sup>?</sup>		GEN <sup>?</sup>	
CIP <sup>?</sup>	GyrA T86I Contig 1 - 99.8% IDT - 100.0% COV Positions [ 146349 : 148937 ]	AMC <sup>?</sup>	
ERY <sup>?</sup>			
TEI <sup>?</sup>			

### Autres mécanismes de résistance ou virulence identifiés

Base de données ou ATB correspondant	MARQUEUR	CTG	IDT	COV	POSITIONS
(DB) CARD	OXA-193.3001478...	4	100.0	100.0	119658:120431
(DB) CARD	cmeC.3000785.AB8...	4	99.1	100.0	61150:62628
(DB) CARD	cmeA.3000783.CP0...	4	95.1	100.0	56932:58035
(DB) CARD	cmeR.3000526.AL1...	4	100.0	100.0	56205:56837
Virulence	porA.VFG001895(g...	7	99.0	100.0	26188:27462
Virulence	figD.VFG001890(g...	10	100.0	100.0	84180:85064
Virulence	figE.VFG001891(g...	10	99.9	100.0	82539:84176
Virulence	flhM.VFG001893(g...	10	100.0	100.0	71122:72201
Virulence	flhA.VFG001894(g...	10	100.0	100.0	70406:71122
Virulence	flhF.VFG001895(g...	10	100.0	100.0	67761:69215
Virulence	flhI.VFG001896(g...	11	100.0	100.0	41487:42872
Virulence	flhF.VFG001897(g...	4	100.0	100.0	103613:105295
Virulence	flhG.VFG001898(g...	4	100.0	100.0	102585:103613
Virulence	flhH.VFG001899(g...	4	99.9	100.0	101747:102577
Virulence	flhB.VFG001900(g...	4	100.0	100.0	89567:90651
Virulence	motB.VFG001901(g...	4	100.0	100.0	88818:89561
...	...	...	...	...	...

# 1,392 isolates sequenced since 2017



- Escherichia coli* 4 \*
- Helicobacter burdigaliensis* 4
- Helicobacter sp.* 4
- Campylobacter sp.* 3
- Helicobacter caesarodunensis* 3
- Helicobacter canadensis* 3
- Aliarcobacter cryaerophilus* 2
- Campylobacter lanienae* 2
- Campylobacter lari* 2
- Helicobacter labetoulli* 2
- Helicobacter rapini* 2
- Mycoplasma hominis* 2
- Campylobacter showae* 1
- Campylobacter upsaliensis* 1
- Campylobacter ureolyticus* 1
- Helicobacter anseris* 1
- Helicobacter bizzozeronii* 1
- Helicobacter brantae* 1
- Helicobacter fenneliae* 1
- Helicobacter hepaticus* 1
- Helicobacter muridarum* 1
- Helicobacter nemestrinae* 1
- Helicobacter pametensis* 1
- Helicobacter valdiviensis* 1