

Solutions d'automatisation pour la surveillance de la salubrité alimentaire avec la série MiSeq^{MC} i100

Librairies hautement uniformes et données de haute qualité
pour la détection des agents pathogènes d'origine alimentaire

Réduction de la durée
de manipulation

Performances
uniformes et fiables

Couverture complète
des génomes
bactériens

Introduction

La gestion de la salubrité alimentaire est un élément essentiel de la santé publique. Les maladies d'origine alimentaire associées à la contamination microbienne par des bactéries pathogènes représentent une menace importante pour la santé humaine. En particulier, les **souches bactériennes récurrentes, émergentes ou persistantes (REP, Recurring, Emerging, Persisting)**, notamment les bactéries pathogènes *E. coli*, *Listeria*, *Campylobacter*, *Shigella*, et *Salmonella*, peuvent provoquer périodiquement de graves épidémies^{1,2}.

L'utilisation de méthodes de laboratoire pour déterminer le sous-type des bactéries entériques, notamment celui de la *Salmonella*, a joué un rôle essentiel dans l'identification des épidémies potentielles et dans l'établissement de liens entre les maladies causées par des bactéries et les sources de ces épidémies. Aux États-Unis, le réseau national de surveillance moléculaire par séquençage de nouvelle génération (SNG) prévient plus de 250 000 maladies causées par des bactéries entériques chaque année et permet d'économiser un demi-milliard de dollars en coûts médicaux et en perte de productivité^{3,4}.

Bien que le séquençage du génome entier (WGS, Whole-genome Sequencing) basé sur le SNG ait fourni des avantages significatifs aux laboratoires de microbiologie sur le plan de la vitesse, de la précision et du niveau de détails des renseignements, la préparation des librairies reste un goulot d'étranglement. L'automatisation de la préparation des librairies à l'aide d'un système de manipulation de liquides permet d'obtenir des librairies uniformes tout en réduisant la durée de manipulation et le risque d'erreurs humaines⁵.

Cette note technique démontre la performance d'un flux de travail de SNG complet qui intègre trois options pour automatiser la préparation des librairies à l'aide d'Illumina DNA Prep avec séquençage sur la série MiSeq i100 et analyse avec le logiciel DRAGEN^{MC} pour une surveillance efficace et précise de la salubrité alimentaire (**figure 1**)⁶.

Méthodes

Échantillons

Trente-deux isolats de *Salmonella enterica* recueillis dans le cadre de la surveillance de routine PulseNet⁷ ont été mis en culture sur base BBL Blood Agar Base, sans ajout de sang (BD, référence n° 211037). L'ADN génomique (ADNg) a été extrait à l'aide de la trousse Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega, référence n° A1120) en modifiant légèrement le protocole pour l'isolement de l'ADNg des bactéries à Gram négatif⁸. L'ADNg purifié a été quantifié avec la trousse Qubit dsDNA BR Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, référence n° Q32853) avant la préparation des librairies.

Préparation des librairies

Les librairies prêtes pour le séquençage ont été préparées en trois exemplaires à l'aide de trois solutions automatisées et d'une solution manuelle pour Illumina DNA Prep (Illumina, référence n° 20060059). Pour la normalisation du rendement des librairies, 100 ng d'ADNg extrait par échantillon ont été utilisés comme entrée. Pour obtenir une taille d'insert optimale sur la série MiSeq i100, une phase supplémentaire de purification des billes avec un rapport bille/échantillon de 0,5× a été incluse pour retirer les inserts courts⁹. Les trois solutions d'automatisation évaluées comprenaient le **système Biomek NGenius Next Generation Library Prep System** (Beckman Counter, référence n° C62), le poste de travail automatisé **Biomek i7 Automated Workstation** (Beckman Coulter, référence n° B87585) et la **plateforme firefly** (SPT Labtech) (**tableau 1**).

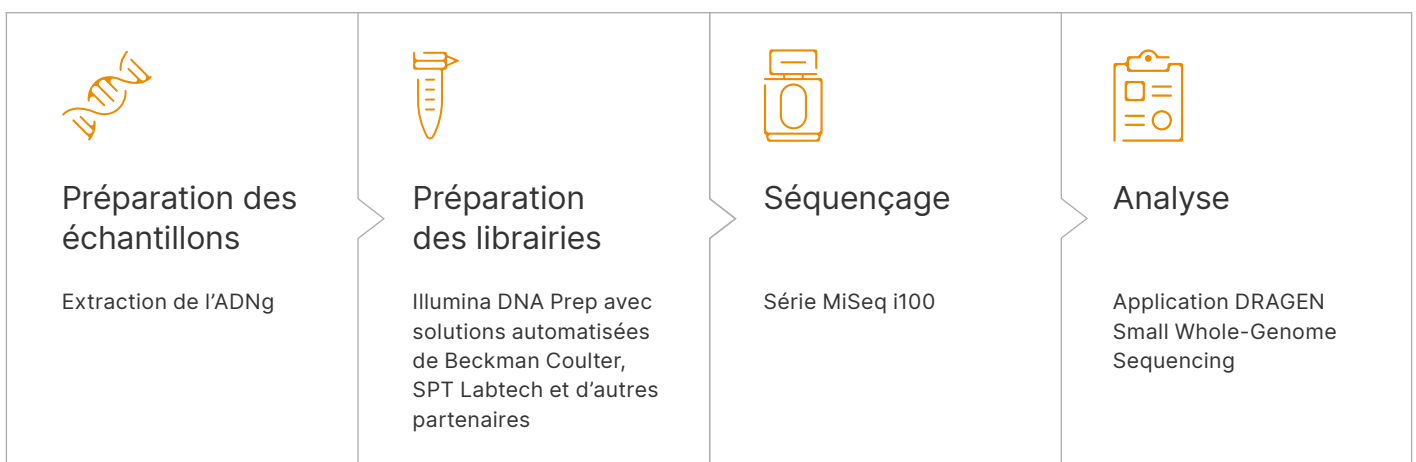


Figure 1 : Flux de travail de SNG complet pour la détection de la *Salmonella*

Combinez les solutions automatisées pour la préparation de librairies Illumina avec le séquençage sur la série MiSeq i100 et l'analyse secondaire DRAGEN pour une surveillance précise de l'agent pathogène d'origine alimentaire *Salmonella*.

La qualité et la concentration des bibliothèques amplifiées par PCR ont été évaluées à l'aide de 4200 TapeStation System (Agilent Technologies, référence n° G2991BA) et la trousse Qubit 1X dsDNA High Sensitivity (HS) Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, référence n° Q33231) avant le regroupement.

Séquençage

Les bibliothèques préparées ont été regroupées par volume et diluées à une concentration de chargement de 60 pM (32 bibliothèques/analyse). Le séquençage a été effectué sur MiSeq i100 Plus System à l'aide d'une Flow Cell 25M avec une configuration d'analyse de 2 × 301 pb. Pour les études de plus grande envergure, les analyses de séquençage peuvent être étendues aux systèmes NextSeq^{MC} 1000, NextSeq 2000 ou NovaSeq^{MC} 6000.

Analyse des données

Une fois le séquençage terminé, les données ont été transférées dans BaseSpace^{MC} Sequence Hub et traitées à l'aide de l'application FASTQ Toolkit (v2.2.6) pour sous-échantillonner les ensembles de données à 700 000 lectures appariées (PE, Paired-end). L'analyse a été effectuée à l'aide de l'application DRAGEN Small Whole-Genome Sequencing (sWGS) (v4.3.13) pour obtenir la couverture du génome, les indicateurs de profondeur médiane et des indicateurs de test supplémentaires.

Résultats

Indicateurs de séquençage

MiSeq i100 Plus System a généré des données de séquençage avec une moyenne de $\geq 96,5$ % des bases au-dessus de Q30 et ≥ 75 % des lectures passant le filtre (PF) (tableau 2). La concentration des bibliothèques préparées avec des méthodes automatisées et la méthode manuelle était comparable (figure 2A).

Tableau 2 : Indicateurs de séquençage et durées d'analyse avec la méthode manuelle et les méthodes automatisées de préparation de bibliothèques

Méthode	Q30 moyen (%)	% PF	Nbre total de lectures appariées PF	Durée de l'analyse de séquençage
Manuelle	97,95 ± 0,40	81,09 ± 8,4	64 122 141	14 h 13 min
Biomek NGenius	97,92 ± 0,18	77,72 ± 0,96	61 455 112	14 h 2 min
Biomek i7	96,67 ± 0,55	78,04 ± 2,79	61 710 695	14 h 2 min
SPT firefly	97,66 ± 0,13	75,31 ± 1,49	59 551 797	14 h 21 min

Tableau 1 : Durées des tests avec la méthode manuelle et les méthodes automatisées de préparation de bibliothèques

Méthode ^a	Durée d'automatisation	Durée de manipulation	Durée totale du test
Manuelle	S. O.	60 à 90 min	~ 4 à 4,5 h
Biomek NGenius	21 h 45 min	~ 45 min	~ 21 h 45 min ^b
Biomek i7	~ 4 h 10 min	~ 20 à 24 min	~ 4 h 34 min
SPT firefly	3 h 8 min	~ 20 à 22 min	~ 3 h 28 min

a. 96 échantillons par analyse.
b. La durée d'analyse pour traiter 24 échantillons avec Biomek NGenius est de 7 h 15 min.

Le pourcentage de lectures démultiplexées, qui représente la proportion du nombre total de lectures qui ont été attribuées avec succès à un échantillon en fonction de son code à barres, montre des valeurs comparables avec un faible coefficient de variation (CV) (≤ 10 %) entre les méthodes automatisées et la méthode manuelle, indiquant en outre que des données de bonne qualité ont été obtenues avec toutes les méthodes de préparation de bibliothèques évaluées (figure 2B).

Tailles d'insert médianes

La taille d'insert est un paramètre important dans la préparation des bibliothèques de SNG et peut être affectée par les conditions de réaction de tagmentation telles que la durée, la température et les étapes de nettoyage des bibliothèques à l'aide des billes Illumina Purification Beads. La préparation automatisée des bibliothèques a entraîné une taille d'insert médiane uniforme, plus importante que celle observée avec la préparation manuelle des bibliothèques (figure 3).

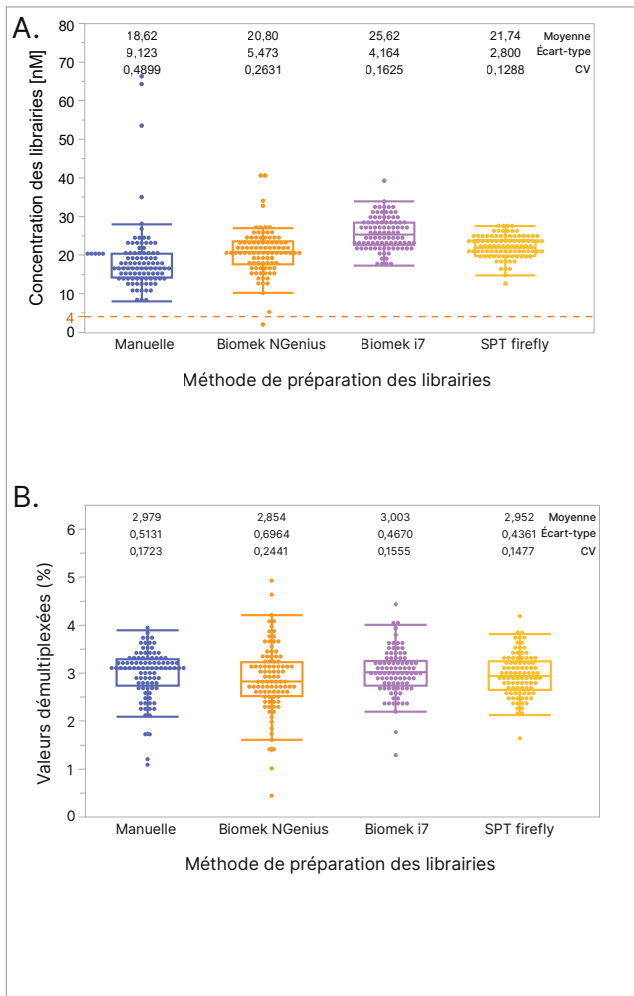


Figure 2 : Données de haute qualité avec les méthodes automatisées

(A) Les concentrations des librairies préparées avec diverses méthodes automatisées étaient comparables à celles obtenues avec la préparation manuelle, avec des valeurs de coefficient de variation (CV) légèrement inférieures. (B) Les méthodes automatisées de préparation de librairies génèrent des données de séquençage de haute qualité avec des valeurs démultiplexées (en %) comparables à celles obtenues avec la préparation manuelle de librairies.

Couverture génomique

L'analyse effectuée à l'aide de l'application DRAGEN sWGS a démontré que $\geq 90\%$ du génome de la *Salmonella* était couvert à $\geq 20\times$ la profondeur de couverture, comme le montre la moyenne mobile de couverture d'un échantillon représentatif (figure 4) et de 30 échantillons analysés sur 33 (figure 5). La taille d'insert médiane plus courte obtenue avec la préparation manuelle (figure 3) peut expliquer la profondeur de couverture plus faible observée avec la préparation manuelle (figure 4), bien qu'une couverture génomique complète soit obtenue (figure 5).

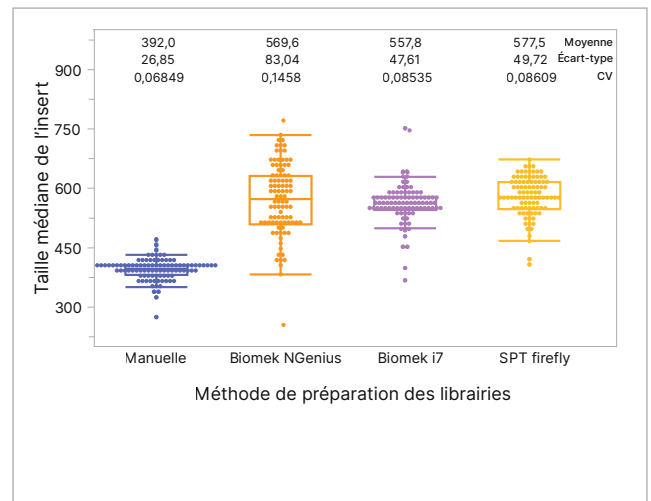


Figure 3 : Taille d'insert médiane uniforme avec les méthodes automatisées

La taille d'insert médiane pour les méthodes automatisées de préparation de librairies était systématiquement plus importante que la taille d'insert médiane générée avec la préparation manuelle de librairies.

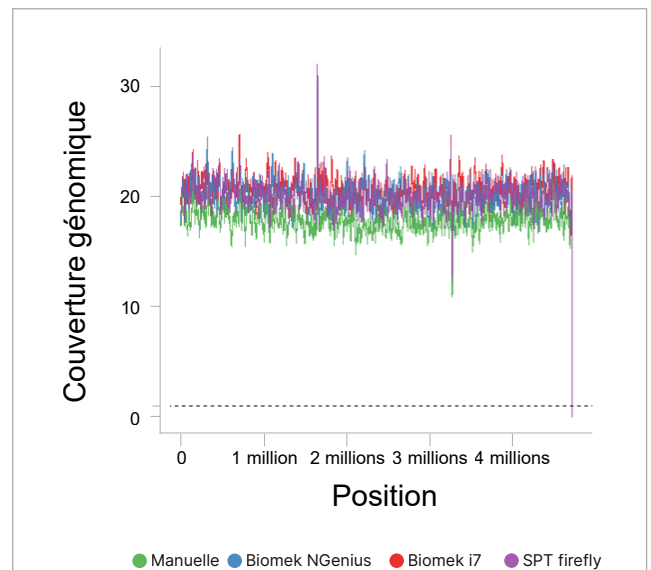
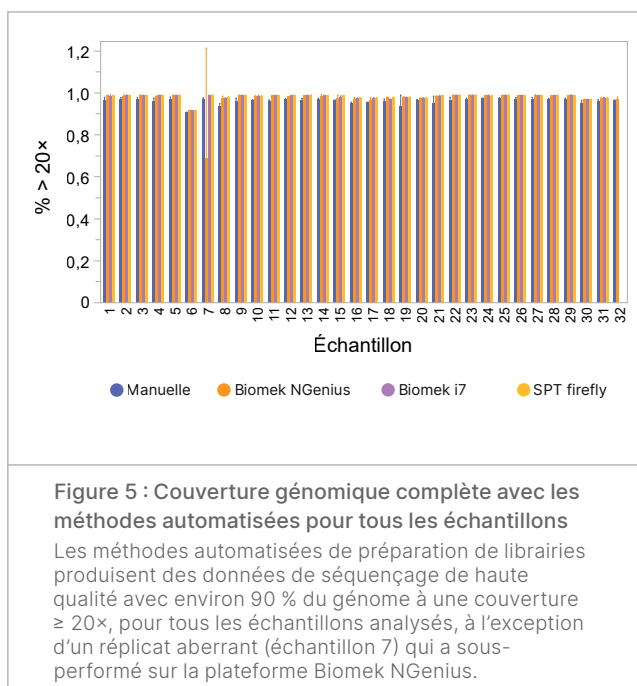


Figure 4 : Couverture du génome avec les méthodes automatisées

Les méthodes automatisées de préparation de librairies produisent des données de séquençage de haute qualité, comme le montre la moyenne mobile de couverture génomique d'un échantillon représentatif.



Résumé

Les maladies d'origine alimentaire associées à la contamination microbienne par des bactéries représentent une menace importante pour la santé humaine. Les méthodes automatisées génèrent des bibliothèques uniformes tout en réduisant la durée de manipulation et le risque d'erreurs humaines. La série MiSeq i100 peut incorporer des méthodes automatisées pour la préparation des bibliothèques afin d'offrir un flux de travail de SNG rapide et complet qui fournit des données de haute qualité pour une surveillance efficace dans le cadre des efforts en matière de santé publique.

En savoir plus →

[Illumina DNA Prep](#)

[Série MiSeq i100](#)

illumina^{MD}

Numéro sans frais aux États-Unis :
+ (1) 800 809-4566 | Téléphone : + (1) 858 202-4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2026 Illumina, Inc. Tous droits réservés. Toutes les marques de commerce sont la propriété d'Illumina, Inc. ou de leurs détenteurs respectifs. Pour obtenir des renseignements sur les marques de commerce, consultez la page www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-02913 FRA v1.0

Références

1. Tyson GH, Li C, Harrison LB, et al. [A Multidrug-Resistant Salmonella Infantis Clone is Spreading and Recombining in the United States](#). *Microb Drug Resist*. 2021;27(6):792-799. doi:10.1089/mdr.2020.0389
2. Hutchinson JA, Wheeler C, Mohle-Boetani JC. [Outbreak epidemiologically linked with a composite product of beef, mechanically separated chicken and textured vegetable protein contaminated with multiple serotypes of Salmonella enterica including multidrug-resistant Infantis, California 2016](#). *Epidemiol Infect*. 2018;146(4):430-436. doi:10.1017/S0950268817002941
3. Scharff RL, Besser J, Sharp DJ, Jones TF, Peter GS, Hedberg CW. [An Economic Evaluation of PulseNet: A Network for Foodborne Disease Surveillance](#). *Am J Prev Med*. 2016;50(5 Suppl 1):S66-S73. doi:10.1016/j.amepre.2015.09.018
4. Ribot EM, Freeman M, Hise KB, Gerner-Smidt P. [PulseNet: Entering the Age of Next-Generation Sequencing](#). *Foodborne Pathog Dis*. 2019;16(7):451-456. doi:10.1089/fpd.2019.2634
5. Socea JN, Stone VN, Qian X, Gibbs PL, Levinson KJ. [Implementing laboratory automation for next-generation sequencing: benefits and challenges for library preparation](#). *Front Public Health*. 2023;11:1195581. Publié le 13 juillet 2023. doi:10.3389/fpubh.2023.1195581
6. Illumina. [Food safety surveillance with the MiSeq i100 Series application note](#). Publié le 28 juillet 2025. Consulté le 1er août 2025.
7. Stevens EL, Carleton HA, Beal J, et al. [Use of Whole Genome Sequencing by the Federal Interagency Collaboration for Genomics for Food and Feed Safety in the United States](#). *J Food Prot*. 2022;85(5):755-772. doi:10.4315/JFP-21-437
8. Leeper MM, Schroeder MN, Griswold T, et al. [Validation of Core and Whole-Genome Multi-Locus Sequence Typing Schemes for Shiga-Toxin-Producing E. coli \(STEC\) Outbreak Detection in a National Surveillance Network, PulseNet 2.0, USA](#). *Microorganisms*. 2025;13(6):1310. Publié le 4 juin 2025. doi:10.3390/microorganisms13061310
9. Illumina. [Maximizing performance on the MiSeq i100 Series](#). illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembly-assets/marketing-literature/miseq-i100-library-optimization-technote-m-gl-03322/miseq-i100-library-optimization-technote-m-gl-03322.pdf. Publié en 2024. Consulté le 15 juillet 2025.