

Viral Surveillance Panel

Secuenciación optimizada del genoma completo de virus de alto impacto mediante enriquecimiento por captura híbrida

- Cobertura de 66 virus identificados como de alto riesgo para la salud pública
- Enriquecimiento selectivo de patógenos víricos de ARN y ADN
- Compatible con una serie de tipos de muestras del huésped y del entorno

illumina[®]

Supervisión de las amenazas víricas para la salud pública

El brote de SARS-CoV-2 de 2019 y el brote del virus de la viruela del mono de 2022 han demostrado la necesidad fundamental de un sistema de alerta temprana de patógenos y de herramientas para la supervisión y evaluación de los brotes. La secuenciación de nueva generación (NGS, Next-Generation Sequencing) ofrece un enfoque eficaz para el cribado de muestras y la detección de virus sin necesidad de conocer previamente el agente infeccioso. La información detallada que proporciona la NGS permite importantes aplicaciones de caracterización y supervisión, como las siguientes:

- Secuenciación reflexiva de muestras positivas conocidas durante los brotes
- Seguimiento de las fuentes de infección y de las vías de transmisión
- Supervisión de la evolución vírica y la resistencia antivírica

Viral Surveillance Panel permite la detección mediante NGS de 66 genomas víricos, incluidos los virus identificados como riesgos importantes para la salud pública por la Organización Mundial de la Salud (OMS) (Tabla 1).¹ El panel usa un flujo de trabajo de enriquecimiento de objetivos por captura híbrida que permite la secuenciación de diversos tipos de muestras sin la necesidad de la alta profundidad de lectura de la muestra que se requiere para la secuenciación metagenómica indiscriminada. En comparación con otros métodos de resecuenciación selectiva, como la secuenciación de amplicones, la captura híbrida también proporciona una cobertura más uniforme a través de los genomas, paneles de sondas sustancialmente más grandes y una mayor capacidad para identificar mutaciones y secuencias relacionadas, lo que hace que Viral Surveillance Panel sea ideal para la vigilancia de brotes.

Flujo de trabajo de NGS integrado y completo

El flujo de trabajo de Viral Surveillance Panel enriquece los genomas víricos de una serie de muestras del huésped y del entorno, incluidas las aguas residuales.² Los pasos de secuenciación de la preparación de librerías se pueden completar en dos días en los sistemas de secuenciación de referencia (Figura 1).

Tabla 1: Incorporación en Viral Surveillance Panel.¹

Adenovirus	Virus de la hepatitis B	Parechovirus
Aichivirus	Virus de la hepatitis C	Parvovirus
Astrovirus	Virus de la hepatitis E	Poliovirus
Coronavirus-229E	Virus de la gripe A	Rinovirus
Coronavirus-HKU1	Virus de la gripe B	Virus de la fiebre del Valle del Rift
Coronavirus-OC43	Virus de la encefalitis japonesa	Rotavirus
Coronavirus-NL63	Virus Junín	Virus de la rubéola
Enterovirus	Virus Nipah	Virus de la encefalitis equina venezolana
Hantavirus	Virus de la fiebre hemorrágica de Omsk	Virus de la encefalitis equina occidental
Henipavirus Hendra	Virus del papiloma humano oncolítico	Virus de la fiebre amarilla
Virus Chapare	Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1	Poliomavirus
Virus Chikunguña	Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 2	Virus respiratorio sincitial
Virus de Coxsackie	Virus de la enfermedad de la selva de Kyasanur	Virus Sabiá
Virus de la encefalitis equina oriental	Metaneumovirus	Virus Torque Teno
Virus de la fiebre hemorrágica de Crimea-Congo	Virus de la fiebre de Lassa	Salivirus
Virus de la hepatitis A	Virus paragripal	Virus del Zika
Virus del dengue 1	Virus de la fiebre hemorrágica de Lujo	Sapovirus
Virus del dengue 2	Virus Machupo	SARS-COV
Virus del dengue 3	Virus de Marburgo	SARS-COV-2
Virus del dengue 4	MERS-CoV	Virus de la encefalitis transmitida por garrapatas
Virus del Ébola	Virus de la viruela del mono	Virus variola
Virus Guanarito	Norovirus	Virus del Nilo Occidental

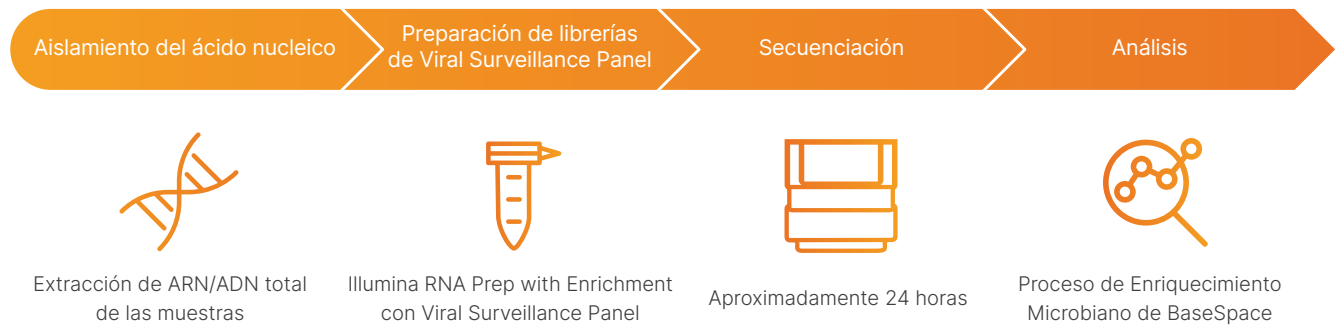


Figura 1: Flujo de trabajo de Viral Surveillance Panel: en un flujo de trabajo optimizado y completo, las librerías se preparan a partir de muestras del entorno o del huésped, se secuencian en cualquier sistema de secuenciación de Illumina y se analizan en el proceso de Enriquecimiento Microbiano de BaseSpace para la detección vírica, la generación por consenso del genoma completo, la asignación de lecturas a las mejores mutaciones víricas y la caracterización de cepas. El tiempo de secuenciación varía según la profundidad de lectura de muestra y el sistema de secuenciación que se use.

Preparación de librerías

Viral Surveillance Panel sigue el mismo protocolo de preparación de librerías que Illumina [Respiratory Virus Oligo Panel](#).³ Illumina RNA Prep with Enrichment usa tagmentación en bolas seguida de un paso de hibridación única para proporcionar un flujo de trabajo rápido para generar librerías enriquecidas. Illumina RNA Prep with Enrichment proporciona:

- Flujo de trabajo rápido y compatible con la automatización que se puede completar en aproximadamente dos días con un mínimo de tiempo de participación activa
- Cantidad de entrada de muestras flexible que va de 10 ng a 100 ng de ácido nucleico total
- Productividad flexible que admite la multiplexación de hasta 384 muestras en un experimento único

Secuenciación

Los requisitos de menor profundidad de lectura para las librerías enriquecidas con VSP permiten múltiples opciones de sistemas de secuenciación, incluidos los sistemas de referencia MiniSeq™, MiSeq™, y NextSeq™ 550, NextSeq 1000 y NextSeq 2000. El título del virus, la calidad de la muestra de ácido nucleico, la profundidad de lectura de la muestra y el número de lecturas por muestra influyen en el número de lecturas específicas del virus y en la cobertura de la secuencia obtenida. La recomendación general de profundidad de lectura de secuenciación para muestras de buena calidad es de un mínimo de 2 millones de lecturas "paired-end" por muestra con una longitud de lectura de 149 pb. La profundidad de lectura de muestra recomendada también varía según el tipo de muestra. En el caso de muestras más complejas, como las aguas residuales, se recomienda un mínimo de 4 millones de lecturas "paired" por muestra.

Análisis de datos

Viral Surveillance Panel es compatible con el proceso de análisis secundario de Enriquecimiento Microbiano, disponible en [BaseSpace™ Sequence Hub](#). El proceso de Enriquecimiento Microbiano proporciona el ensamblaje de contigs, las secuencias de consenso y la cobertura del genoma para los genomas víricos que aparecen en el panel.

Rendimiento

Enriquecimiento de objetivos

El enriquecimiento de objetivos por captura híbrida para Viral Surveillance Panel se realiza con el kit Illumina RNA Prep with Enrichment. En comparación con la secuenciación metagenómica indiscriminada, en la que se secuencian todos los ARN/ADN, la captura híbrida selectiva reduce la secuenciación innecesaria de los microbios huéspedes y no objetivo, lo que reduce los costes y permite una amplia secuenciación de los genomas víricos en los sistemas de secuenciación de referencia ([Figura 2](#)).

La secuenciación del genoma completo (WGS, Whole-Genome Sequencing) de múltiples virus a la vez permite la vigilancia vírica y el análisis de la evolución vírica. Las sondas de enriquecimiento de objetivos de Viral Surveillance Panel proporcionan una cobertura uniforme de genomas de virus completos ([Figura 3](#)). Además, las oligosondas usadas para los protocolos de captura híbrida siguen siendo eficaces dentro de las regiones mutadas, lo que permite la captura de virus que evolucionan rápidamente, como los virus de ARN.

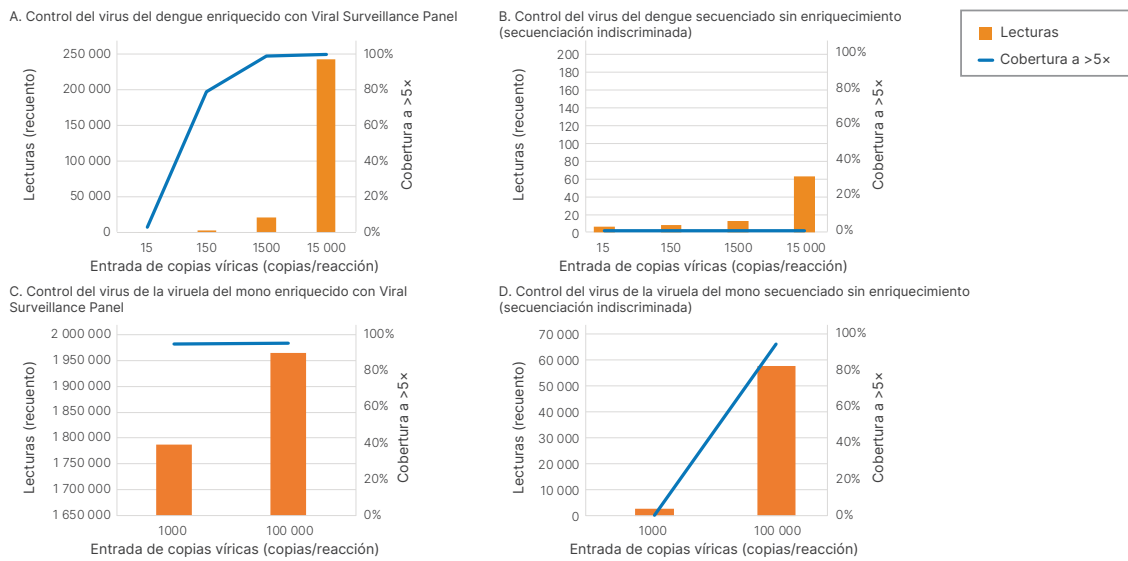


Figura 2: Recuento de lecturas y ganancias de cobertura del genoma vírico mediante Viral Surveillance Panel: rendimiento de Viral Surveillance Panel y la secuenciación sin enriquecimiento en comparación con los controles víricos disponibles en el mercado. (A) Control del virus del dengue mezclado en un fondo de 10 ng de ARN humano y enriquecido con Viral Surveillance Panel, (B) Control del virus del dengue mezclado en un fondo de 10 ng de ARN humano y secuenciado sin enriquecimiento, (C) Control del virus de la viruela del mono mezclado en un fondo de 10 ng de ARN humano y 10 ng de ADN humano y enriquecido con Viral Surveillance Panel, (D) Control del virus de la viruela del mono secuenciado sin enriquecimiento mezclado en un fondo de 10 ng de ARN humano y 10 ng de ADN humano y secuenciado sin enriquecimiento. Las muestras se secuenciaron y los datos se normalizaron a 2 millones de lecturas "paired-end" a 2 × 149 pb.

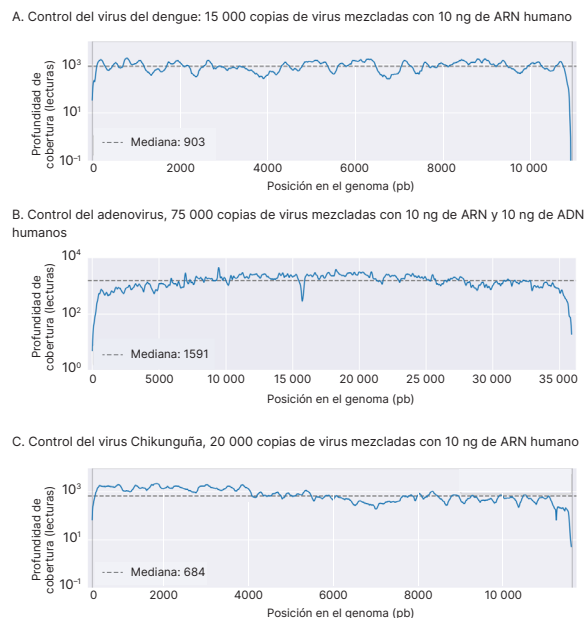


Figura 3: Genoma vírico uniforme tras el enriquecimiento con Viral Surveillance Panel: los controles víricos se prepararon mezclando controles víricos con un número de copias conocido con una mezcla de 10 ng de ARN/ADN humano. Las librerías se prepararon y secuenciaron siguiendo el flujo de trabajo de Viral Surveillance Panel.

Vigilancia de las aguas residuales

La vigilancia de las secuencias víricas en las aguas residuales constituye un indicador regional de la propagación comunitaria de patógenos víricos, lo que proporciona a los profesionales de la salud pública una valiosa información para la planificación de la respuesta. Viral Surveillance Panel se puede usar con estas muestras para permitir la detección e identificación tempranas de genomas víricos en aguas residuales a concentraciones más bajas que en la secuenciación indiscriminada (Tabla 2).

Resumen

Viral Surveillance Panel proporciona un flujo de trabajo optimizado y completo para la detección y supervisión de brotes víricos. Incluye sondas de captura híbrida para 66 genomas completos de ARN y ADN de virus que se han identificado como de alto riesgo para la salud pública.¹ El enriquecimiento de objetivos por captura híbrida reduce la necesidad de una alta profundidad de lectura de muestra al centrarse en las secuencias objetivo. Esto reduce los costes y aumenta la capacidad de productividad. El flujo de trabajo también es compatible con una serie de tipos de muestras y aplicaciones, incluida la vigilancia

Tabla 2: Virus detectados en las aguas residuales mediante Viral Surveillance Panel o la secuenciación indiscriminada.^a

	Viral Surveillance Panel	Secuenciación indiscriminada	Viral Surveillance Panel	Secuenciación indiscriminada
Virus identificado	Cobertura del genoma $\geq 5\times$ (%)		Lecturas (recuento)	
Astrovirus	98,9	0	122 525	7
Poliomavirus JC	98,9	0	29 749	0
Poliomavirus BK	97,8	0	29 318	5
hCoV-OC43	87,3	0	23 352	8
Aichivirus A	95,1	0	16 919	4
Norovirus GII	90,0	0	7873	0
Virus de Coxsackie A19	65,2	0	7195	0
Norovirus GII.P7_GII.6	69,7	0	2572	0
Virus tipo Norwalk	57,3	0	1191	0
Cepa GI del norovirus	51,2	0	859	0

a. Las muestras fueron recogidas por los investigadores de la Universidad Estatal de Colorado y los ácidos nucleicos totales purificados se enviaron a Illumina para su análisis. Las librerías se prepararon y secuenciaron usando 100 ng de ácidos nucleicos totales

de las aguas residuales para detectar la presencia regional de virus. Por último, Viral Surveillance Panel es compatible con el proceso gratuito de Análisis de Enriquecimiento Microbiano en BaseSpace Sequence Hub. Este flujo de trabajo de NGS ofrece a las organizaciones de salud pública y a los investigadores una alternativa avanzada a la costosa y complicada secuenciación indiscriminada.

Información adicional

Viral Surveillance Panel, [illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/viral-surveillance-panel.html](https://www.illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/viral-surveillance-panel.html)

Illumina RNA Prep with Enrichment, [illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/rna-prep-enrichment.html](https://www.illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/rna-prep-enrichment.html)

Aplicaciones de BaseSpace, [illumina.com/products/by-type/informatics-products/basespace-sequence-hub/apps.html](https://www.illumina.com/products/by-type/informatics-products/basespace-sequence-hub/apps.html)

Plataformas de secuenciación de Illumina, [illumina.com/systems/sequencing-platforms.html](https://www.illumina.com/systems/sequencing-platforms.html)

Datos para realizar pedidos

Producto	N.º de catálogo
Viral Surveillance Panel (96 samples)	20088154
Viral Surveillance Panel with Illumina RNA Prep with Enrichment Indexes Set A (96 samples)	20087932
Viral Surveillance Panel with Illumina RNA Prep with Enrichment Indexes Set B (96 samples)	20087929

Bibliografía

1. Bloom DE, Cadarette D. [Infectious Disease Threats in the Twenty-First Century: Strengthening the Global Response](#). *Front Immunol*. 2019;10:549. Fecha de publicación: 28 de marzo de 2019. doi:10.3389/fimmu.2019.00549
2. McClary-Gutierrez JS, Aanderud ZT, Al-Faliti M, et al. [Standardizing data reporting in the research community to enhance the utility of open data for SARS-CoV-2 wastewater surveillance](#). *Environ Sci (Camb)*. 2021;9:10.1039/d1ew00235j. doi:10.1039/d1ew00235j
3. Illumina. Illumina RNA Prep with Enrichment (L) Tagmentation: Reference guide. support.illumina.com/content/dam/illumina-support/documents/documentation/chemistry_documentation/illumina_prep/RNA/illumina-rna-prep-reference-guide-1000000124435-03.pdf. Año de publicación: 2021. Fecha de consulta: 13 de septiembre de 2022.

illumina[®]

1 800 809 4566 (llamada gratuita, EE. UU.) | tel.: +1 858 202 4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2022 Illumina, Inc. Todos los derechos reservados. Todas las marcas comerciales pertenecen a Illumina, Inc. o a sus respectivos propietarios. Si desea consultar información específica sobre las marcas comerciales, consulte www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-01240 ESP v1.0