

Viral Surveillance Panel v2

Sequenciamento
simplificado de genoma
completo para vigilância e
pesquisa viral de alto risco

- O painel expandido fornece cobertura de aproximadamente 200 vírus, incluindo os de interesse da saúde pública.¹⁻⁶
- O enriquecimento de captura híbrida acomoda patógenos virais de RNA e DNA
- O fluxo de trabalho integrado é compatível com uma variedade de tipos de amostras hospedeiras e ambientais.⁷

illumina[®]

Identificação de vírus de alto impacto para vigilância da saúde pública

A vigilância genômica viral desempenha um papel fundamental na segurança da saúde global, fornecendo insights valiosos sobre a evolução, disseminação e comportamento de patógenos.¹ A análise da composição genética de vírus usando sequenciamento de última geração (NGS) permite que os cientistas rastreiem mutações que podem afetar a transmissibilidade, virulência ou resistência ao tratamento.⁸ Essas informações são cruciais para projetar testes diagnósticos eficazes, terapias e vacinas para combater doenças infecciosas emergentes.

O Illumina Viral Surveillance Panel v2 é um painel de NGS que permite a detecção e o sequenciamento do genoma completo (WGS) de aproximadamente 200 vírus (lista completa disponível [aqui](#)), incluindo vírus identificados como de alto risco para a saúde pública¹⁻⁶ (Tabela 1). O painel usa um fluxo de trabalho de enriquecimento de alvo de captura híbrida que permite o sequenciamento de vários tipos de amostras sem a alta profundidade de leitura exigida pelo sequenciamento metagenômico shotgun. Comparada a outros métodos de ressequenciamento direcionado, como sequenciamento de amplicon, a captura híbrida propicia uma cobertura mais uniforme nos genomas virais e maior capacidade de identificar mutações e sequências divergentes, tornando o Viral Surveillance Panel v2 uma solução ideal para vigilância de surtos e monitoramento de variantes.

Fluxo de trabalho de NGS simplificado

O fluxo de trabalho do Viral Surveillance Panel v2 enriquece genomas virais de uma variedade de tipos de amostras, incluindo água residual, soro, plasma, lesões cutâneas e swabs nasofaríngeos.⁷ As bibliotecas são preparadas a partir de RNA ou DNA extraído de amostras hospedeiras ou ambientais, sequenciadas em um sistema de sequenciamento de bancada da Illumina e analisadas usando o aplicativo DRAGEN™ Microbial Enrichment Plus, disponível no BaseSpace™ Sequence Hub. As etapas de preparação e sequenciamento da biblioteca podem ser concluídas em dois dias com tempo mínimo de manuseio⁷ (Figura 1).

Preparação da biblioteca

O fluxo de trabalho de preparação da biblioteca do Viral Surveillance Panel v2 consiste em etapas de pré-enriquecimento e enriquecimento. O pré-enriquecimento gera centenas de milhares de bibliotecas não direcionadas que são enriquecidas com sondas Viral Surveillance Panel v2, usando uma abordagem de captura híbrida. O enriquecimento com tagmentação em bead fornece um fluxo de trabalho rápido e compatível com automação que pode ser completado em aproximadamente dois dias com o mínimo de tempo de trabalho efetivo. O protocolo acomoda quantidades de entrada de amostras que variam de 10 ng a 100 ng de ácido nucleico total e é compatível com a multiplexação de até 384 amostras em uma corrida única.



Figura 1: Fluxo de trabalho do Viral Surveillance Panel v2. Em um fluxo de trabalho simplificado e abrangente, as bibliotecas são preparadas a partir de amostras ambientais ou hospedeiras, sequenciadas em um sistema de sequenciamento da Illumina e analisadas com o aplicativo DRAGEN Microbial Enrichment Plus quanto à detecção viral, geração de consenso de genoma completo, leitura de mapeamento quanto aos melhores resultados virais e tipagem de cepa. O tempo de sequenciamento varia com a profundidade de cobertura da amostra e o sistema de sequenciamento usado.

Tabela 1: Principais vírus de alto risco incluídos no Viral Surveillance Panel v2.

Vírus adeno-associado 2	Adenovírus humano A–G	Vírus Mayaro	Vírus Sabiá
Vírus Aichi 1	Bocavírus humano	Vírus do Sarampo	Salivírus A
Vírus Aigai (FHCC)	Coronavírus humano	Vírus Menangle	Vírus siciliano da febre do mosquito-pólvora
Vírus Bombali	Citomegalovírus humano	Coronavírus relacionado à síndrome respiratória do Oriente Médio	Sapovírus
Vírus de Bourbon	Vírus da imunodeficiência humana 1/2	Vírus da Mpox	Coronavírus relacionado à síndrome respiratória aguda grave
Vírus Cache Valley	Metapneumovírus humano	Vírus da Caxumba	Coronavírus relacionado à síndrome respiratória aguda grave 2
Vírus da encefalite da Califórnia	Papilomavírus humano	Vírus da encefalite de Murray Valley	Vírus da Floresta de Semliki
Vírus Chapare	Vírus da parainfluenza humana 1–4	Vírus Nipah	Febre grave com vírus da síndrome da trombocitopenia
Vírus da Chikungunya	Parechovírus humano	Norovírus	Vírus Sindbis
Vírus da febre do carrapato do Colorado	Parvovírus humano B19	Vírus da febre hemorrágica de Omsk	Vírus da lebre Snowshoe
Vírus de Coxsackie A/B	Vírus da Influenza A–C	Vírus O'nyong-nyong	Vírus Sosuga
Vírus da febre hemorrágica da Crimeia-Congo	Vírus Jamestown Canyon	Vírus Oropouche	Vírus da encefalite St. Louis
Vírus da Dengue 1–4	Vírus da encefalite japonesa	Poliovírus	Vírus do carrapato de Tacheng 2
Vírus Ebola	Vírus Junin	Poliomavírus	Vírus Tahyna
Ecovírus	Vírus da doença da Floresta de Kyasanur	Vírus de Powassan	Vírus da encefalite do carrapato
Enterovírus A–D	Vírus La Crosse	Vírus Punta Toro	Vírus Torque teno
Vírus Epstein-Barr	Vírus Lassa	Vírus da raiva	Vírus Toscana
Vírus da encefalite equina	Vírus Lloviu	Vírus Ravn	Vírus Usutu
Vírus Gguanarito	Vírus Lujo	Vírus sincial respiratório A/B	Vírus varicela-zóster
Hantavírus	Vírus da coriomeningite linfocítica	Rinovírus A–C	Vírus da varíola
Vírus Heartland	Lissavírus	Vírus da febre do Vale Rift	Vírus do Nilo ocidental
Henipavírus	Vírus Machupo	Vírus Ross River	Vírus da febre amarela
Hepatovírus A–E	Mamastrovírus	Rotavírus A/B/C/H	Vírus da Zika
Vírus Herpes simplex 1/2	Vírus de Marburgo	Vírus da rubéola	

Sequenciamento

Os requisitos de profundidade de leitura menor para bibliotecas enriquecidas pelo Viral Surveillance Panel v2 permitem diversas opções de sistema de sequenciamento, inclusive os sistemas de bancada MiniSeq™, MiSeq™, NextSeq™ 550, NextSeq 1000 e NextSeq 2000. A titulação de vírus, a qualidade da amostra de ácido nucleico, a profundidade de leitura da amostra e o número de leituras por amostra afetam o número de leituras específicas do vírus e a cobertura da sequência obtida. A recomendação de profundidade de leitura de sequenciamento geral para amostras de boa qualidade é de, no mínimo, 2 milhões de leituras totais por amostra e comprimento da leitura de 2 × 150 bp. A profundidade de leitura da amostra recomendada também varia conforme o tipo de amostra. Para amostras mais complexas, como água residual, recomenda-se o mínimo de 8 milhões de leituras totais por amostra. Leituras abundantes fora do alvo são esperadas se outros ácidos nucleicos microbianos estiverem presentes, como de bactérias encontradas em tipos complexos de amostras.

Análise de dados

Os dados gerados através do Viral Surveillance Panel v2 são analisados com o aplicativo DRAGEN Microbial Enrichment Plus, disponível no BaseSpace Sequence Hub. O pipeline de análise fácil de usar fornece controle de qualidade da amostra, alinhamento guiado por referência a um amplo banco de dados de genoma viral selecionado, identificação de variantes, geração de sequências de consenso do genoma viral, previsão de resistência antiviral para o vírus da influenza A/B, opções flexíveis de geração de relatórios e integração com Pangolin e Nextclade para atribuição filogenética adicional de vírus compatíveis.

Desempenho

Enriquecimento-alvo

Comparada ao sequenciamento metagenômico shotgun, onde todo RNA ou DNA é sequenciado, a captura híbrida direcionada usada pelo Viral Surveillance Panel v2 minimiza o sequenciamento desnecessário de micróbios hospedeiros e não direcionados, o que reduz os custos e permite um amplo sequenciamento de genomas virais em sistemas de sequenciamento de bancada.⁷

Para avaliar o desempenho do Viral Surveillance Panel v2, amostras virais multialvo foram criadas em diferentes números de cópias na presença de RNA humano (10 ng) e base de DNA humano (10 ng) (Tabela 2).

A recuperação do genoma viral através do enriquecimento com o Viral Surveillance Panel v2 foi comparada com o sequenciamento metagenômico shotgun sem enriquecimento. O Viral Surveillance Panel v2 demonstrou uma recuperação superior do genoma viral a partir de amostras concebidas de multialvos em comparação com o sequenciamento metagenômico shotgun (Figura 2). Usando o método do Viral Surveillance Panel v2, 99,1% do genoma do adenovírus E humano e 99,4% do genoma do vírus da influenza A (H3N2) foram recuperados, em média, em três réplicas com 1.000 cópias do genoma por reação (Figura 2A, 2C). O sequenciamento metagenômico shotgun demonstrou cobertura genômica significativamente menor em relação à mesma titulação viral. Em réplicas com 1.000 cópias do genoma por reação, em média, apenas 1,9% do genoma do adenovírus E humano e 0% do genoma do vírus da influenza A (H3N2) foi recuperado (Figura 2B, 2D).

Tabela 2: Material de controle viral quantitativo usado para avaliar o desempenho do Viral Surveillance Panel v2.

Cepa de referência	Material de controle viral	Fornecedor	N.º do catálogo
Cepa RI-67 do adenovírus humano 4	DNA genômico quantitativo	ATCC	VR-1572DG
Cepa A/Wisconsin/15/2009 do vírus da Influenza A (H3N2)	RNA genômico quantitativo	ATCC	VR-1882DQ

Amostras clínicas remanescentes

O fluxo de trabalho flexível do Viral Surveillance Panel v2 acomoda RNA, DNA e ácido nucleico total extraídos de vários tipos de amostras clínicas, incluindo plasma, soro, lesões cutâneas e swabs nasofaríngeos. Ao reduzir a proporção de leituras do hospedeiro sequenciadas e enriquecer leituras virais direcionadas, o Viral Surveillance Panel v2 demonstra maior cobertura do genoma viral e profundidade mediana de cobertura. Amostras clínicas remanescentes com vírus pré-identificados foram usadas para avaliar o desempenho do Viral Surveillance Panel v2 (Tabela 3). Todas as amostras clínicas remanescentes enriquecidas com o Viral Surveillance Panel v2 demonstraram maior sensibilidade de detecção viral em diferentes vírus e tipos de amostras, quando comparadas ao sequenciamento metagenômico shotgun (Figura 3).

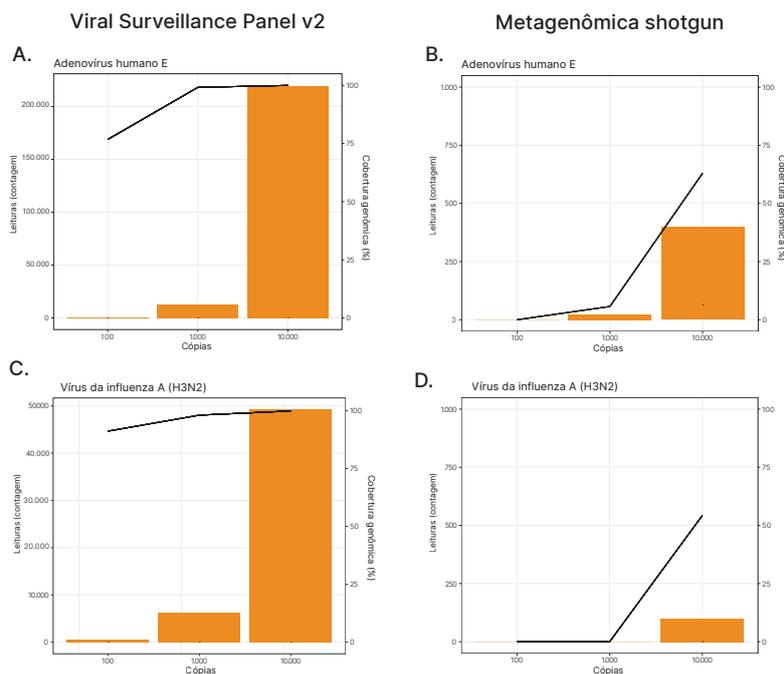


Figura 2: Contagens de leitura e ganhos de cobertura do genoma viral através do Viral Surveillance Panel v2. O desempenho do Viral Surveillance Panel v2 e do sequenciamento shotgun sem enriquecimento foram comparados mediante o uso de amostras artificiais quantitativas multialvo disponíveis comercialmente. (A) Adenovírus humano 4 (cepa RI-67) enriquecido com Viral Surveillance Panel v2, (B) adenovírus humano 4 (cepa RI-67) sequenciado por metagenômica shotgun sem enriquecimento, (C) vírus da Influenza A (H3N2) enriquecido com Viral Surveillance Panel v2, (D) vírus da Influenza A (H3N2) sequenciado por metagenômica shotgun sem enriquecimento. Três réplicas no nível de 100, 1.000 e 10.000 cópias/reação de cada amostra artificial foram sequenciadas no NextSeq 550 System com lâminas de fluxo de alta produtividade. Os dados de sequenciamento foram normalizados para um total de 2 milhões de leituras.

Tabela 3: Amostras clínicas remanescentes foram usadas para avaliar o desempenho do Viral Surveillance Panel v2.

Vírus pré-identificado	Tipo de amostra	Kit de extração	Entrada de amostra
Vírus Herpes simplex 1	Lesão cutânea	Minipreparação de DNA/RNA ZymoBIOMICS	Ácido nucleico total
Vírus Herpes simplex 2	Lesão cutânea	Minipreparação de DNA/RNA ZymoBIOMICS	Ácido nucleico total
Vírus da imunodeficiência humana 1	Plasma/soro	Kit de isolamento de ácido ultranucleico do microbioma MagMAX	DNA, RNA
Vírus da Dengue	Soro	Kit de RNA viral QIAmp	RNA
Vírus sincicial respiratório humano A	Swab nasofaríngeo	Kit de RNA viral QIAmp	RNA
Vírus da influenza A (H3N2)	Swab nasofaríngeo	Kit de RNA viral QIAmp	RNA

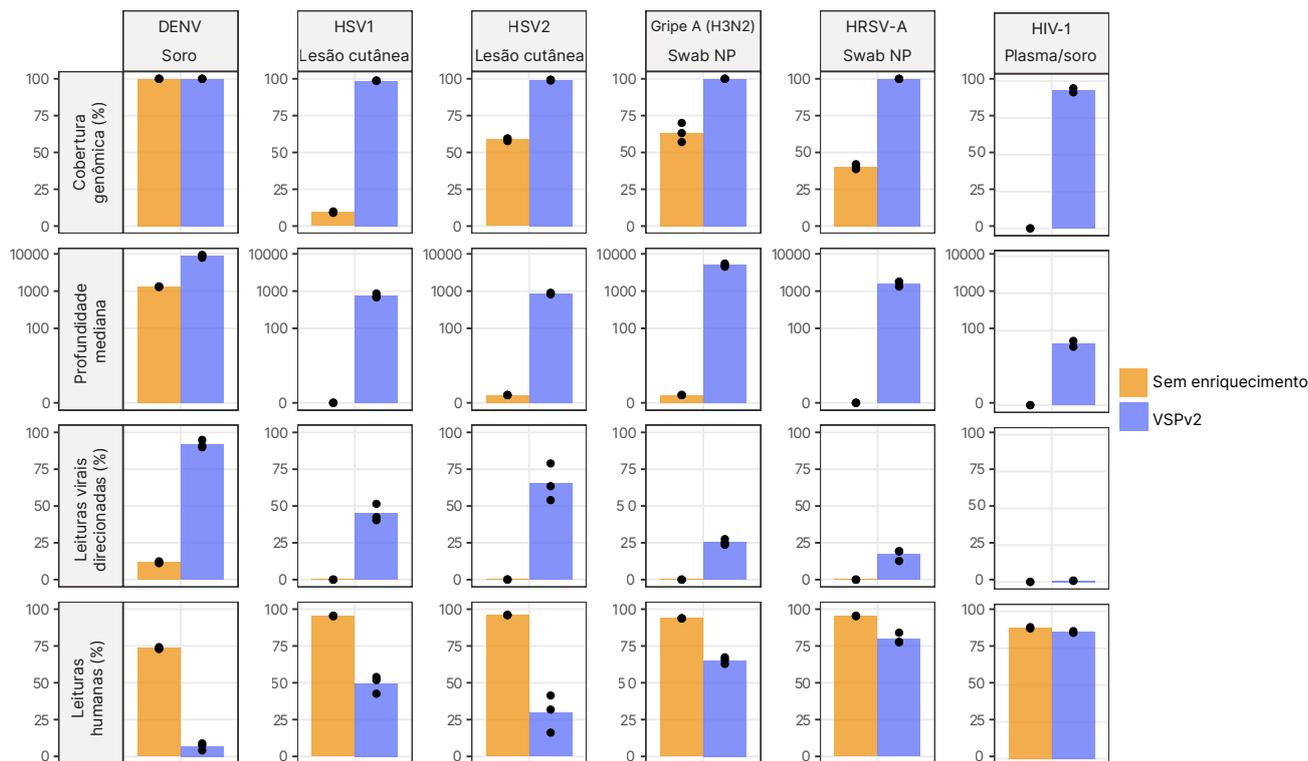


Figura 3: Desempenho do Viral Surveillance Panel v2 com amostras clínicas remanescentes. Cobertura genômica, leituras virais direcionadas, profundidade mediana e porcentagem de leituras humanas obtidas através do Viral Surveillance Panel v2 ou do sequenciamento metagenômico shotgun foram evidenciados. Duas ou três réplicas de seis amostras clínicas foram sequenciadas no NextSeq 550 System com lâminas de fluxo de alta produtividade. Os dados de sequenciamento foram normalizados para um total de 2 milhões de leituras. DENV, vírus da Dengue; HSV1, vírus da Herpes simplex 1; HSV2, vírus da Herpes simplex 2; Gripe A, Influenza A; HRSV-A, vírus sincicial respiratório humano A; HIV-1, vírus da imunodeficiência humana; NP, nasofaríngeo; VSPv2, Viral Surveillance Panel v2.

Monitoramento de água residual

A vigilância de sequências virais em águas residuais fornece um indicador regional da disseminação comunitária de patógenos virais, fornecendo aos profissionais de saúde pública informações valiosas para o planejamento da resposta.⁹ O Viral Surveillance Panel pode ser usado com essas amostras para viabilizar a detecção e a identificação precoces de genomas virais em águas residuais de concentrações mais baixas do que o sequenciamento shotgun (tabela 4).

Amostras de água residual de dois locais de coleta foram extraídas por meio de colaborações com o Wisconsin State Lab of Hygiene (WSLH) e a Colorado State University (CSU). Foram avaliadas três amostras de cada

local de coleta. As bibliotecas preparadas a partir dessas seis amostras de água residual foram sequenciadas e normalizadas para um total de oito milhões de leituras com a finalidade de enriquecimento do Viral Surveillance Panel v2 ou oito milhões e 50 milhões de leituras totais para sequenciamento metagenômico shotgun. Uma profundidade de sequenciamento de 8 milhões de leituras totais foi usada nesta comparação porque as amostras de água residual podem variar muito em complexidade e podem conter dezenas de vírus em baixa abundância. O Viral Surveillance Panel v2 demonstrou aumento da sensibilidade de detecção viral em um tipo de amostra ambiental complexa com baixa carga viral geral em comparação com o sequenciamento metagenômico shotgun, mesmo quando as leituras totais para o sequenciamento metagenômico shotgun foram aumentadas em aproximadamente seis vezes (tabela 4).

Tabela 4: Principais vírus detectados em água residual através do Viral Surveillance Panel v2 ou do sequenciamento metagenômico shotgun.

Vírus (cepa)	Total de 8 milhões de leituras				Total de 50 milhões de leituras	
	Viral Surveillance Panel v2		Metagenômica shotgun		Metagenômica shotgun	
	Cobertura genômica (%)	Contagens de leituras	Cobertura genômica (%)	Contagens de leituras	Cobertura genômica (%)	Contagens de leituras
Sapovírus (GII.1)	99,7	219.539	50,0	57	84,2	360
Adenovírus humano F (adenovírus humano 41)	100	104.693	6,4	18	23,6	72
Coronavírus humano OC43 (HCoV_OC43)	98,1	23.857	0	0	10,0	26
Sapovírus (GV)	99,6	10.750	0	0	25,3	19
Adenovírus humano E	88,4	6.733	0	0	0	0
Poliomavírus JC (JCPyV)	99,3	5.834	0	0	0	0
Mamastrovírus 9 (MAstV9)	99,2	4.959	0	0	0	0
Mamastrovírus 1 (MAstV1)	98,6	3.972	7,5	5	22,0	13
Adenovírus humano A (adenovírus humano 31)	81,1	3.449	0	0	0	0
Mamastrovírus 6 (MAstV6) [MLB1]	97,2	3.181	0	0	17,3	9
Norovírus (G1)	96,9	1.972	0	0	0	0
Poliomavírus BK (BKPyV)	100	1.522	0	0	11,1	4
Mamastrovírus 8 (MAstV8) [VA2]	92,1	1.208	0	0	6,1	4
Papilomavírus humano 59 (HPV59; alto risco)	69,3	1.015	0	0	0	0
Enterovírus A (não relacionado ao vírus de Coxsackie) [Enterovírus A71]	70,0	295	5,1	4	9,0	6

Resumo

O Viral Surveillance Panel v2 faz parte de um fluxo de trabalho otimizado e abrangente de detecção de surtos virais, vigilância zoonótica e rastreamento de mutações. O kit inclui sondas de captura híbrida para identificar cerca de 200 genomas de vírus de RNA e DNA que foram designados como de alto risco para a saúde pública. O enriquecimento de alvos de captura híbrida minimiza a necessidade de alta profundidade de leitura de amostras ao se concentrar nas sequências de alvos, reduzindo custos e aumentando a produtividade. O fluxo de trabalho simplificado é compatível com uma variedade de tipos de amostras e aplicações, inclusive amostras clínicas e monitoramento da presença regional de vírus em água residual. Os dados gerados através do Viral Surveillance Panel v2 podem ser analisados com o aplicativo fácil de usar DRAGEN Microbial Enrichment Plus no BaseSpace Sequence Hub. Esse fluxo de trabalho completo de NGS oferece excelente desempenho de captura viral para identificar DNA e RNA em amostras complexas, fornecendo a organizações de saúde pública e pesquisadores uma alternativa avançada ao sequenciamento shotgun.

Saiba mais

[Viral Surveillance Panel v2](#)

[DRAGEN Microbial Enrichment Analysis Plus App](#)

[Sistemas de sequenciamento da Illumina](#)

Informações para pedidos

Produto	N.º do catálogo
Illumina Viral Surveillance Panel v2 Kit, Set A (96 samples)	20108081
Illumina Viral Surveillance Panel v2 Kit, Set B (96 samples)	20108082
Illumina Viral Surveillance Panel v2 Kit, Set C (96 samples)	20108083
Illumina Viral Surveillance Panel v2 Kit, Set D (96 samples)	20108084
Illumina Viral Surveillance Panel v2, Panel Only (96 samples)	20123403

Referências

- Ling-Hu T, Rios-Guzman E, Lorenzo-Redondo R, Ozer EA, Hultquist JF. [Challenges and opportunities for global genomic surveillance strategies in the COVID-19 era.](#) *Viruses*. 2022;14(11):2532. doi:10.3390/v14112532.
- World Health Organization. Pathogens prioritization: a scientific framework for epidemic and pandemic research preparedness. [who.int/publications/m/item/pathogens-prioritization-a-scientific-framework-for-epidemic-and-pandemic-research-preparedness](#). Publicado em 30 de julho de 2024. Acessado em 9 de agosto de 2024.
- World Health Organization. Prioritizing diseases for research and development in emergency contexts. [who.int/activities/prioritizing-diseases-for-research-and-development-in-emergency-contexts](#). Acessado em 9 de agosto de 2024.
- Bloom DE, Cadarette D. [Infectious disease threats in the twenty-first century: strengthening the global response.](#) *Front Immunol*. 2019;10:549. doi:10.3389/fimmu.2019.00549.
- World Health Organization. Disease Outbreak News. [who.int/emergencies/disease-outbreak-news](#). Atualizado em 31 de julho de 2024. Acessado em 9 de agosto de 2024.

6. Africa Centers for Disease Control and Prevention. Diseases information. africacdc.org/disease/. Acessado em 9 de agosto de 2024.
7. Dados em arquivo. Illumina, Inc. 2024.
8. Thakur S, Sasi S, Pillai SG, et al. [SARS-CoV-2 mutations and their impact on diagnostics, therapeutics and vaccines](#). *Front Med (Lausanne)*. 2022;9:815389. doi:10.3389/fmed.2022.815389.
9. Diamond MB, Keshaviah A, Bento AI, et al. [Wastewater surveillance of pathogens can inform public health responses](#). *Nat Med*. 2022;28(10):1992-1995. doi:10.1038/s41591-022-01940-x.



+1 (800) 809-4566, ligação gratuita (EUA) | tel. +1 (858) 202-4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2024 Illumina, Inc. Todos os direitos reservados. Todas as marcas comerciais pertencem à Illumina, Inc. ou aos respectivos proprietários. Para obter informações específicas sobre marcas comerciais, consulte www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-02882 PTB v2.0