

# Viral Surveillance Panel

Sequenciamento de genoma completo simplificado de vírus de alto impacto usando enriquecimento por captura híbrida

- Cobertura de 66 vírus identificados como de alto risco à saúde pública
- Enriquecimento direcionado para patógenos virais de RNA e DNA
- Compatível com uma variedade de tipos de amostras ambientais e hospedeiras

**illumina**<sup>®</sup>

## Monitoramento de ameaças virais para saúde pública

O surto de 2019 SARS-CoV-2 e o surto do vírus 2022 monkeypox (varíola do macaco) indicaram a necessidade imperativa de um sistema de alerta precoce para patógenos e de ferramentas para monitorar e avaliar surtos. O sequenciamento de última geração (NGS) fornece uma abordagem efetiva para triagem de amostras e para detectar vírus sem a necessidade de conhecimento prévio do agente infeccioso. As informações detalhadas fornecidas pelo NGS permitem aplicações relevantes de caracterização e monitoramento, que incluem:

- Sequenciamento reflexivo de amostras positivas conhecidas durante surtos
- Rastreamento de origens de infecção e rotas de transmissão
- Monitoramento de evolução viral e resistência aos antivirais

O Viral Surveillance Panel permite detecção por NGS de 66 genomas virais, inclusive vírus identificados como riscos importantes à saúde pública pela Organização Mundial de Saúde (WHO, World Health Organization) ([Tabela 1](#)).<sup>1</sup> O painel usa um fluxo de trabalho de enriquecimento de alvo por captura híbrida que permite o sequenciamento de vários tipos de amostras sem a necessidade do alto valor de profundidade de leitura da amostra que é requerida para sequenciamento metagenômico shotgun. Comparada a outros métodos de ressequenciamento direcionado, como sequenciamento amplicon, a captura híbrida propicia ainda cobertura mais uniforme nos genomas, painéis de sonda significativamente maiores e maior capacidade de identificar mutações e sequências relacionadas fazendo com que o Viral Surveillance Panel seja ideal para vigilância de surtos.

## Fluxo de trabalho de NGS integrado e abrangente

O fluxo de trabalho do Viral Surveillance Panel é enriquecido para genomas virais a partir de uma variedade de amostras hospedeiras e ambientais, inclusive água residual.<sup>2</sup> As etapas de sequenciamento de preparação da biblioteca podem ser completadas em dois dias em sistemas de sequenciamento de bancada ([Figura 1](#)).

Tabela 1: Incluído no Viral Surveillance Panel.<sup>1</sup>

Adenovírus	Vírus da hepatite B	Parechovírus
Aichivírus	Vírus da hepatite C	Parvovírus
Astrovírus	Vírus da hepatite E	Poliovírus
Vírus chapare	Vírus da imunodeficiência humana 1	Poliomavírus
Vírus Chikungunya	Vírus da imunodeficiência humana 2	Vírus sincial respiratório
Coronavírus-229E	Vírus da influenza A	Rinovírus
Coronavírus-HKU1	Vírus da influenza B	Vírus da febre do Vale Rift
Coronavírus-OC43	Vírus da encefalite japonesa	Rotavírus
Coronavírus-NL63	Vírus junin	Vírus da rubéola
Vírus de Coxsackie	Vírus da doença da floresta de Kyasanur	Vírus sabiá
Vírus da febre hemorrágica Crimean-Congo	Vírus da febre de Lassa	Salivírus
Vírus da Dengue 1	Vírus lujo de febre hemorrágica	Sapovírus
Vírus da Dengue 2	Vírus machupo	SARS-CoV
Vírus da Dengue 3	Vírus de Marburgo	SARS-CoV-2
Vírus da Dengue 4	MERS-CoV	Vírus da encefalite do carrapato
Vírus da encefalite equina do leste	Metapneumovírus	Vírus torque teno
Vírus ebola	Vírus da varíola do macaco	Vírus da varíola
Enterovírus	Vírus nipah	Vírus da encefalite equina venezuelana
Vírus guararito	Norovírus	Vírus do Nilo ocidental
Hantavírus	Vírus da febre hemorrágica de Omsk	Vírus da encefalite equina ocidental
Hendra henipavírus	Papiloma vírus humano oncogênico	Vírus da febre amarela
Vírus da hepatite A	Vírus da parainfluenza	Vírus da Zika



Figura 1: Fluxo de trabalho Viral Surveillance Panel—Em um fluxo de trabalho simplificado e abrangente, as bibliotecas são preparadas a partir de amostras ambientais ou hospedeiras, sequenciadas em qualquer sistema de sequenciamento da Illumina e analisadas no pipeline BaseSpace Microbial Enrichment quanto a 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.

## Preparação da biblioteca

O Viral Surveillance Panel segue o mesmo protocolo de preparação de biblioteca do Illumina [Respiratory Virus Oligo Panel](#).<sup>3</sup> O Illumina RNA Prep with Enrichment usa tagmentação em bead seguida de uma etapa única de hibridização para fornecer um fluxo de trabalho rápido para geração de bibliotecas enriquecidas. O Illumina RNA Prep with Enrichment fornece:

- Fluxo de trabalho rápido e compatível com automação que pode ser completado em aproximadamente dois dias com o mínimo de tempo de trabalho efetivo.
- Quantidade flexível de entrada de amostras com variação de 10 ng a 100 ng de total de ácido nucleico
- Produtividade escalável que tenha suporte para multiplex de até 384 amostras em uma corrida única

## Sequenciamento

Os requisitos de profundidade de leitura menor para bibliotecas enriquecidas pelo VSP permitem diversas opções de sistema de sequenciamento, inclusive os sistemas de bancada MiniSeq™, MiSeq™ e NextSeq™ 550, NextSeq 1000 e NextSeq 2000. Titulação de vírus, qualidade da amostra de ácido nucleico, profundidade de leitura da amostra e 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 um mínimo de 2 milhões de leituras tipo paired-end por amostra e duração da leitura de 149 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 4 milhões de leituras pareadas por amostra.

## Análise de dados

O Viral Surveillance Panel é compatível com o pipeline de análise secundária Microbial Enrichment Analysis disponível no [BaseSpace™ Sequence Hub](#). O pipeline Microbial Enrichment fornece conjunto contíguo, sequências de consenso e cobertura de genoma para genomas virais apresentados no painel.

## Desempenho

### Enriquecimento alvo

O enriquecimento de alvo por captura híbrida para o Viral Surveillance Panel é realizado com o kit Illumina RNA Prep with Enrichment. Comparada ao sequenciamento metagenômico shotgun, onde todo RNA/DNA é sequenciado, a captura híbrida direcionada reduz sequenciamento desnecessário de micróbios hospedeiros e não direcionados, o que reduz os custos e permite amplo sequenciamento de genomas virais em sistemas de sequenciamento de bancada ([Figura 2](#)).

O sequenciamento de genoma completo (WGS) de vários vírus de uma vez permite vigilância viral e análise de evolução viral. As sondas de enriquecimento de alvo no Viral Surveillance Panel fornecem cobertura uniforme de genomas completos de vírus ([Figura 3](#)). Além disso, as sondas de oligonucleotídeos usadas para protocolos de captura híbrida permanecem efetivas em regiões que sofreram mutação, permitindo a captura de vírus de evolução rápida, como vírus de RNA.

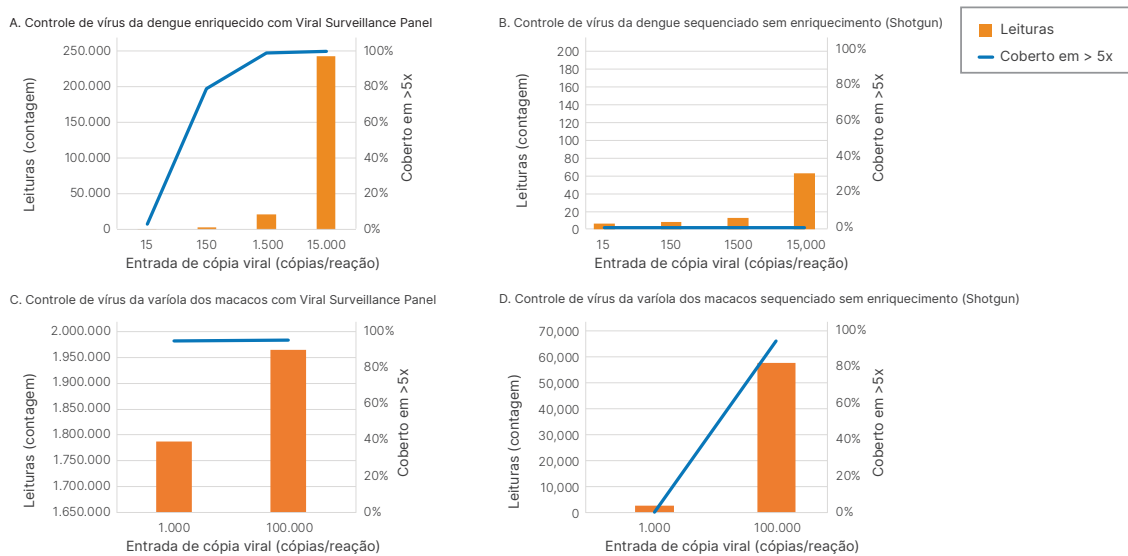


Figura 2: Contagens de leitura e ganhos de cobertura de genoma viral com o uso do Viral Surveillance Panel—Desempenho do Viral Surveillance Panel e sequenciamento sem enriquecimento em comparação com o uso de controles virais disponíveis comercialmente. (A) Controle de vírus da Dengue misturado em 10 ng de base de RNA humano e enriquecido com Viral Surveillance Panel, (B) Controle de vírus da Dengue misturado em 10 ng de base de RNA humano e sequenciado sem enriquecimento, (C) Controle do vírus Monkeypox misturado em 10 ng de RNA humano e 10 ng de base de DNA humano e enriquecido com Viral Surveillance Panel, (D) controle do vírus Monkeypox sequenciado sem enriquecimento misturado em 10 ng de RNA humano e 10 ng de base de DNA humano e sequenciado sem enriquecimento. As amostras foram sequenciadas e os dados normalizados para 2 milhões de leituras tipo paired-end em 2 × 149 bp.

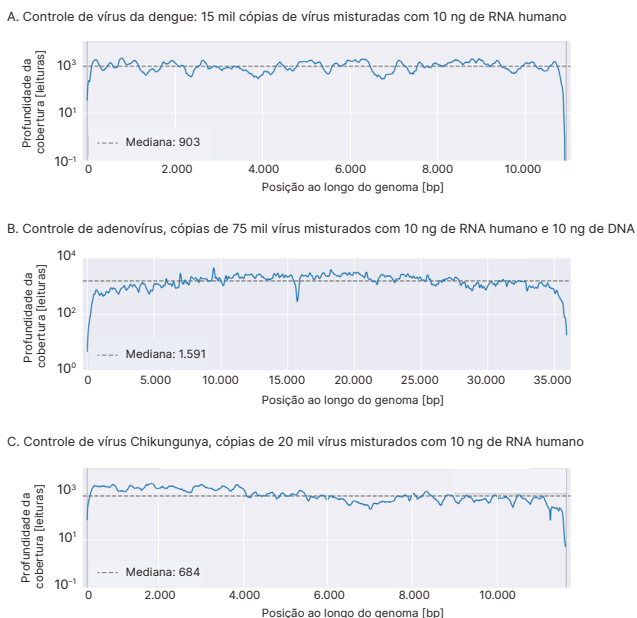


Figura 3: Genoma viral uniforme após enriquecimento com o Viral Surveillance Panel—Os controles de vírus foram preparados misturando controles de vírus em números de cópias conhecidos com 10 ng de mistura de RNA/DNA humano. As bibliotecas foram preparadas e sequenciadas seguindo o fluxo de trabalho do Viral Surveillance Panel.

## Monitoramento de água residual

O monitoramento de sequências virais em água residual fornece um indicador regional de propagação comunal de patógenos virais, que oferece aos profissionais de saúde pública informações valiosas para planejamento de resposta. O Viral Surveillance Panel pode ser usado com essas amostras para detecção precoce e identificação de genomas virais em água residual em concentrações mais baixas do que o sequenciamento shotgun (Tabela 2).

## Resumo

O Viral Surveillance Panel fornece um fluxo de trabalho completo e otimizado para detecção e monitoramento de surto viral. Inclui sondas de captura híbrida para 66 genomas completos de vírus de RNA e DNA que foram identificados como altos riscos para a saúde pública.<sup>1</sup> O enriquecimento alvo de captura híbrida reduz a necessidade de valor alto de profundidade de leitura da amostra porque se concentra nas sequências alvo. Há redução nos custos e aumento na capacidade de produtividade. O fluxo de trabalho ainda é compatível com uma variedade de tipos de amostras e aplicações, inclusive monitoramento de água residual quanto a presença regional de vírus.

Tabela 2: Vírus detectados em água residual usando Viral Surveillance Panel ou sequenciamento shotgun.<sup>a</sup>

	Viral Surveillance Panel	Sequenciamento shotgun	Viral Surveillance Panel	Sequenciamento shotgun
Vírus identificado	Genoma coberto $\geq 5\times$ (%)		Leituras (contagem)	
Astrovírus	98,9	0	122525	7
Poliomavírus JC	98,9	0	29749	0
Poliomavírus BK	97,8	0	29318	5
hCoV-OC43	87,3	0	23352	8
Aichivírus A	95,1	0	16919	4
Norovírus GII	90,0	0	7873	0
Vírus de Coxsackie A19	65,2	0	7195	0
Norovírus GII.P7_GII.6	69,7	0	2572	0
Vírus semelhante ao Norwalk	57,3	0	1191	0
Cepa GI de norovírus	51,2	0	859	0

a. Amostras foram coletadas por pesquisadores na Universidade do Estado do Colorado e ácidos nucleicos totais purificados foram enviados à Illumina para testes. Bibliotecas foram preparadas e sequenciadas usando 100 ng de ácidos nucleicos totais

O Viral Surveillance Panel é compatível com o pipeline gratuito Microbial Enrichment Analysis no BaseSpace Sequence Hub. Esse fluxo de trabalho de NGS fornece às organizações e pesquisadores de saúde pública uma alternativa avançada ao sequenciamento shotgun oneroso e complicado.

## Saiba mais

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

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

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

## Informações para pedido

Produto	N.º do catálogo
Viral Surveillance Panel (96 amostras)	20088154
Viral Surveillance Panel com Illumina RNA Prep with Enrichment Indexes Set A (96 amostras)	20087932
Viral Surveillance Panel com Illumina RNA Prep with Enrichment Indexes Set B (96 amostras)	20087929

## Referências

1. Bloom DE, Cadarette D. [Infectious Disease Threats in the Twenty-First Century: Strengthening the Global Response](#). *Front Immunol*. 2019;10:549. Publicado em 28 de março 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](https://support.illumina.com/content/dam/illumina-support/documents/documentation/chemistry_documentation/illumina_prep/RNA/illumina-rna-prep-reference-guide-1000000124435-03). Publicado em 2021. Acessado em 13 de setembro de 2022.

illumina®

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

© 2022 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](http://www.illumina.com/company/legal.html).  
M-GL-01240 PTB v1.0