

Viral Surveillance Panel v2

Séquençage rationalisé
du génome entier pour la
surveillance et la recherche
virales à haut risque

- Le panel élargi fournit une couverture d'environ 200 virus, notamment ceux qui représentent une menace pour la santé publique¹⁻⁶
- L'enrichissement par capture hybride prend en charge les pathogènes viraux à ARN et ADN
- Le flux de travail intégré prend en charge une gamme de types d'échantillons prélevés de l'hôte et du milieu⁷

Identification des virus à impact important pour la surveillance de la santé publique

La surveillance génomique virale joue un rôle essentiel dans la sécurité sanitaire mondiale en fournissant des renseignements précieux sur l'évolution, la propagation et le comportement des pathogènes¹. L'analyse de la composition génétique des virus à l'aide du séquençage de nouvelle génération (SNG) permet aux scientifiques de suivre les mutations qui peuvent affecter la transmissibilité, la virulence ou la résistance au traitement⁸. Ces renseignements sont essentiels pour concevoir des tests diagnostiques, des traitements et des vaccins efficaces pour lutter contre les maladies infectieuses émergentes.

Le panel Illumina Viral Surveillance Panel v2 est un panel de SNG qui permet la détection et le séquençage du génome entier (WGS, Whole-Genome Sequencing) d'environ 200 virus (liste complète disponible [ici](#)), notamment les virus identifiés comme présentant un risque important pour la santé publique¹⁻⁶ (tableau 1). Le panel utilise un flux de travail d'enrichissement des cibles par capture hybride qui permet le séquençage de divers types d'échantillons sans avoir besoin d'une profondeur de lecture élevée qui est nécessaire pour le séquençage métagénomique aléatoire. Par rapport à d'autres méthodes de reséquençage ciblé, comme le séquençage par amplicon, la capture hybride offre une couverture plus uniforme des génomes viraux et une plus grande capacité à identifier les mutations et les séquences divergentes, ce qui rend Viral Surveillance Panel v2 idéal pour la surveillance des épidémies et des variants.

Flux de travail de SNG rationalisé

Le flux de travail de Viral Surveillance Panel v2 permet d'enrichir les génomes viraux à partir d'une gamme de types d'échantillons, notamment les eaux usées, le sérum, le plasma, les lésions cutanées et les prélèvements nasopharyngés⁷. Les bibliothèques sont préparées à partir d'ARN ou d'ADN extrait d'échantillons prélevés de l'hôte ou du milieu, séquencées sur un système de séquençage de paillasse Illumina et analysées à l'aide de l'application DRAGEN^{MC} Microbial Enrichment Plus disponible sur BaseSpace^{MC} Sequence Hub. Les étapes de préparation de bibliothèques et de séquençage peuvent être réalisées en deux jours avec une durée de manipulation minimale⁷ (figure 1).

Préparation des bibliothèques

Le flux de travail de préparation de bibliothèques de Viral Surveillance Panel v2 comprend des étapes de préenrichissement et d'enrichissement. Le préenrichissement génère des centaines de milliers de bibliothèques non ciblées qui sont enrichies avec des sondes de Viral Surveillance Panel v2 à l'aide d'une approche de capture hybride. L'enrichissement avec la tagmentation sur billes fournit un flux de travail rapide, compatible avec l'automatisation, qui peut être réalisé en deux jours environ, avec une durée de manipulation minimale. Le protocole prend en charge des quantités d'entrées d'échantillons allant de 10 ng à 100 ng d'acide nucléique total et permet le multiplexage de jusqu'à 384 échantillons en une analyse unique.



Figure 1 : Flux de travail de Viral Surveillance Panel v2 : dans le cadre d'un flux de travail rationalisé et complet, les bibliothèques sont préparées à partir d'échantillons prélevés de l'hôte ou du milieu, séquencées à l'aide de n'importe quel système de séquençage Illumina et analysées avec l'application DRAGEN Microbial Enrichment Plus pour la détection virale, la génération d'un consensus du génome entier, la cartographie des lectures aux meilleurs résultats viraux et le typage des souches. Le temps de séquençage varie en fonction de la profondeur de lecture de l'échantillon et du système de séquençage utilisé.

Tableau 1 : Principaux virus à haut risque inclus dans Viral Surveillance Panel v2

Virus associé à l'adénovirus 2	Adénovirus humain de l'espèce A–G	Virus Mayaro	Virus Sabia
Virus Aichi 1	Bocavirus humain	Virus de la rougeole	Salivirus A
Virus d'Aigai	Coronavirus humain	Virus de Menangle	Virus sicilien associé à la fièvre à phlébotome
Virus Bombali	Cytomégalovirus humain	Coronavirus lié au syndrome respiratoire du Moyen-Orient	Sapovirus
Virus de Bourbon	Virus de l'immunodéficience humaine 1/2	Virus Mpox	Coronavirus lié au syndrome respiratoire aigu sévère
Virus de Cache Valley	Métapneumovirus humain	Virus des oreillons	Coronavirus lié au syndrome respiratoire aigu sévère 2
Virus de l'encéphalite de Californie	Virus du papillome humain	Virus de l'encéphalite de Murray Valley	Virus de la forêt de Semliki
Virus Chapare	Virus parainfluenza humain 1–4	Virus Nipah	Syndrome de fièvre sévère avec thrombocytopénie
Virus Chikungunya	Parechovirus humain	Norovirus	Virus Sindbis
Virus de la fièvre à tiques du Colorado	Parvovirus humain B19	Virus de la fièvre hémorragique d'Omsk	Virus Snowshoe hare
Coxsackievirus A/B	Virus grippal A–C	Virus O'Nyong-Nyong	Virus Sosuga
Virus de la fièvre hémorragique de Crimée-Congo	Virus Jamestown Canyon	Virus Oropouche	Virus de l'encéphalite de Saint-Louis
Virus de la dengue 1–4	Virus de l'encéphalite japonaise	Poliovirus	Virus des tiques de Tacheng 2
Virus Ébola	Virus junin	Polyomavirus	Virus Tahyna
Échovirus	Virus de la maladie de la forêt de Kyasanur	Virus Powassan	Virus de l'encéphalite transmis par les tiques
Entérovirus A – D	Virus La Crosse	Virus Punta Toro	Virus Torque Teno
Virus d'Epstein-Barr	Virus Lassa	Virus de la rage	Virus Toscana
Virus de l'encéphalite équine	Virus du Lloviu	Virus Ravn	Virus d'Usutu
Virus Guanarito	Virus Lujo	Virus respiratoire syncytial A/B	Virus varicelle-zone
Hantavirus	Virus de la chorioméningite lymphocytaire	Rhinovirus A–C	Virus de la variole
Virus Heartland	Lyssavirus	Virus de la fièvre de la vallée du Rift	Virus du Nil occidental
Henipavirus	Virus Machupo	Virus de la rivière Ross	Virus de la fièvre jaune
Hepatovirus A–E	Mamastrovirus	Rotavirus A/B/C/H	Virus Zika
Virus de l'herpès simplex 1/2	Virus de Marburg	Virus de la rubéole	

Séquençage

La faible profondeur de lecture requise pour les bibliothèques enrichies à l'aide de Viral Surveillance Panel v2 permet de choisir parmi plusieurs systèmes de séquençage, dont les systèmes de paillasse MiniSeq[™], MiSeq[™], NextSeq[™] 550, NextSeq 1000 et NextSeq 2000. Le titre viral, la qualité de l'échantillon d'acide nucléique, la profondeur de lecture de l'échantillon et le nombre de lectures par échantillon ont un impact sur le nombre de lectures spécifiques au virus et la couverture de la séquence obtenue. La recommandation générale de profondeur de lecture de séquençage pour les échantillons de bonne qualité est un minimum de 2 millions de lectures totales par échantillon avec une longueur de lecture de 2 × 150 pb. La profondeur de lecture recommandée pour les échantillons varie également en fonction du type d'échantillon. Pour des échantillons plus complexes, tels que les eaux usées, un minimum de 8 millions de lectures totales est recommandé par échantillon. De nombreuses lectures hors cible sont à prévoir si d'autres acides nucléiques microbiens sont présents, comme ceux provenant de bactéries présentes dans des types d'échantillons complexes.

Analyse des données

Les données générées à l'aide de Viral Surveillance Panel v2 sont analysées à l'aide de l'application DRAGEN Microbial Enrichment Plus disponible sur BaseSpace Sequence Hub. Ce pipeline d'analyse facile à utiliser fournit un contrôle de la qualité des échantillons, un alignement guidé par les références à une vaste base de données de génomes viraux conservée, un appel des variants, une génération de séquences consensus de génomes viraux, une prédiction de la résistance antivirale pour les virus de la grippe A/B, des options de signalement flexibles et une intégration à Pangolin et Nextclade pour une attribution phylogénétique supplémentaire des virus pris en charge.

Performance

Enrichissement de la cible

Par rapport au séquençage métagénomique aléatoire, où tout l'ARN ou l'ADN est séquencé, la capture hybride ciblée utilisée par le panel Viral Surveillance Panel v2 réduit le séquençage inutile des microbes hôtes et non ciblés, ce qui réduit les coûts et permet le séquençage à grande échelle de génomes viraux sur des systèmes de séquençage de paillasse⁷.

Pour évaluer la performance de Viral Surveillance Panel v2, des échantillons viraux multicibles ont été créés à différents nombres de copies en présence d'un fond élevé d'ARN (10 ng) et d'ADN (10 ng) humains (tableau 2).

La récupération du génome viral avec enrichissement à l'aide de Viral Surveillance Panel v2 a été comparée au séquençage métagénomique aléatoire sans enrichissement. Le panel Viral Surveillance Panel v2 a démontré une récupération supérieure du génome viral à partir d'échantillons artificiels multicibles par rapport au séquençage métagénomique aléatoire (figure 2). À l'aide de la méthode Viral Surveillance Panel v2, 99,1 % du génome de l'adénovirus humain de l'espèce E et 99,4 % du génome du virus de la grippe A (H3N2) ont été récupérés, en moyenne, sur six réplicats avec 1 000 copies de génome par réaction (figure 2A, 2C). Le séquençage métagénomique aléatoire a démontré une couverture génomique considérablement plus faible pour le même titre viral. Dans les réplicats avec 1 000 copies de génome par réaction, en moyenne seulement 1,9 % du génome de l'adénovirus humain de l'espèce E et 0 % du génome du virus de la grippe A (H3N2) ont été récupérés (figure 2B, 2D).

Tableau 2 : Matériel de contrôle viral quantitatif utilisé pour évaluer la performance de Viral Surveillance Panel v2

Souche de référence	Matériel de contrôle viral	Fournisseur	N° de référence
Adénovirus humain 4, souche RI-67	ADN génomique quantitatif	ATCC	VR-1572DG
Virus de la grippe A (H3N2), souche A/Wisconsin/15/2009	ARN génomique quantitatif	ATCC	VR-1882DQ

Échantillons cliniques restants

Le flux de travail flexible de Viral Surveillance Panel v2 prend en charge l'ARN, l'ADN et l'acide nucléique total extraits de plusieurs types d'échantillons cliniques, notamment le plasma, le sérum, les lésions cutanées et les prélèvements nasopharyngés. En réduisant la proportion de lectures d'hôte séquencées et en enrichissant les lectures virales ciblées, Viral Surveillance Panel v2 démontre une couverture accrue du génome viral et une profondeur de couverture médiane. Des échantillons cliniques restants avec des virus pré-identifiés ont été utilisés pour évaluer la performance de Viral Surveillance Panel v2 (tableau 3). Tous les échantillons cliniques restants enrichis avec Viral Surveillance Panel v2 ont démontré une sensibilité accrue de la détection virale dans différents virus (à l'exception du virus de l'immunodéficience humaine 1) et types d'échantillons, par rapport au séquençage métagénomique aléatoire (figure 3).

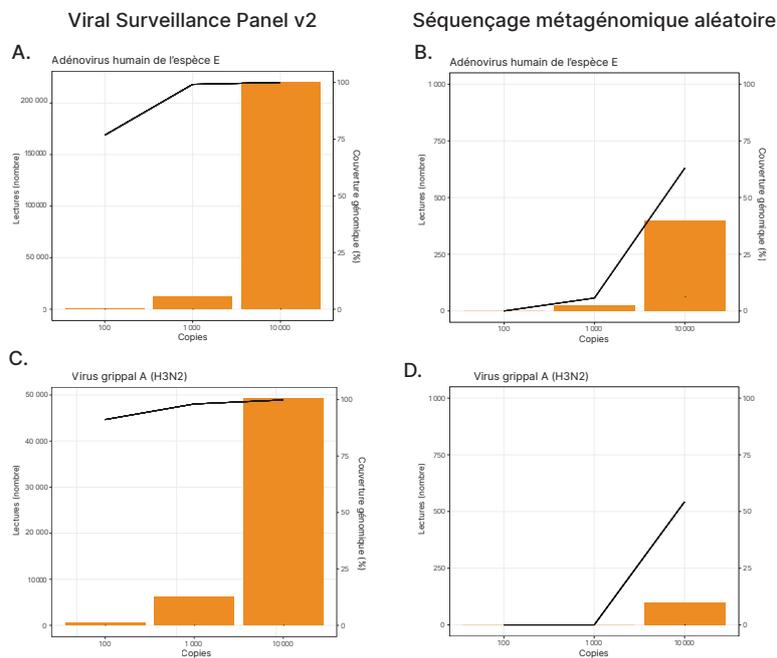


Figure 2 : Les bénéfices du nombre de lectures et de couvertures du génome viral à l'aide de Viral Surveillance Panel v2 : la performance de Viral Surveillance Panel v2 et du séquençage aléatoire sans enrichissement ont été comparés à l'aide d'échantillons artificiels quantitatifs multicibles disponibles sur le marché. (A) Adénovirus humain 4 (souche RI-67) enrichi avec Viral Surveillance Panel v2, (B) Adénovirus humain 4 (souche RI-67) séquençé par métagénomique aléatoire sans enrichissement, (C) Virus de la grippe A (H3N2) enrichi avec le Viral Surveillance Panel v2, (D) Virus de la grippe A (H3N2) séquençé par métagénomique aléatoire sans enrichissement. Six répliquats à 1 000 copies/niveau de réaction de chaque échantillon artificiel ont été séquençés sur NextSeq 550 System avec des Flow Cell à débit élevé. Les données de séquençage ont été normalisées à un total de 2 millions de lectures.

Tableau 3 : Échantillons cliniques restants utilisés pour évaluer la performance de Viral Surveillance Panel v2

Virus préidentifié	Type d'échantillon	Trousse d'extraction	Entrée d'échantillons
Virus de l'herpès simplex de type 1	Lésion cutanée	ZymoBIOMICS DNA/RNA Miniprep	Acide nucléique total
Virus de l'herpès simplex de type 2	Lésion cutanée	ZymoBIOMICS DNA/RNA Miniprep	Acide nucléique total
Virus de l'immunodéficience humaine 1	Plasma/sérum	MagMAX Microbiome UltraNucleic Acid Isolation Kit	ADN, ARN
Virus de la dengue	Sérum	QIAmp Viral RNA Kit	ARN
Virus respiratoire syncytial humain A	Prélèvement nasopharyngé	QIAmp Viral RNA Kit	ARN
Virus grippal A (H3N2)	Prélèvement nasopharyngé	QIAmp Viral RNA Kit	ARN

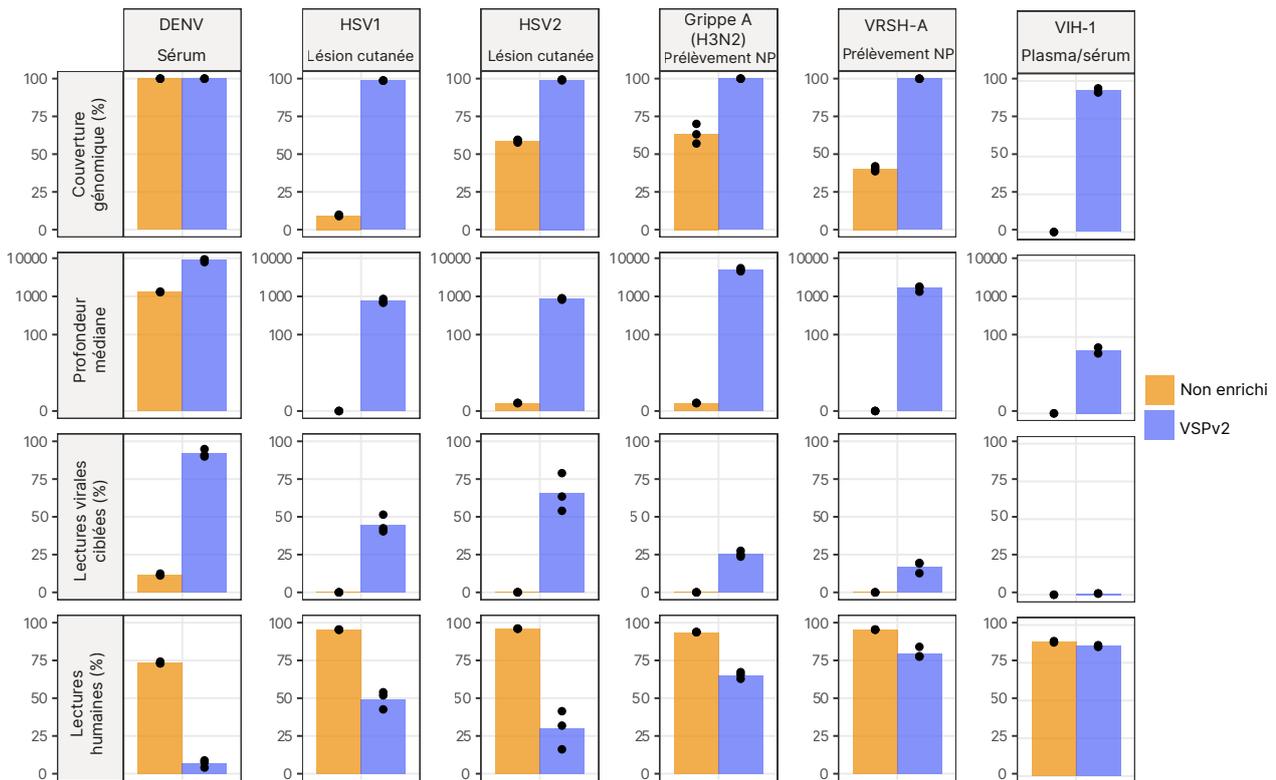


Figure 3 : Performance de Viral Surveillance Panel v2 avec des échantillons cliniques restants : la couverture génomique, les lectures virales ciblées, la profondeur médiane et le pourcentage de lectures humaines obtenues à l'aide de Viral Surveillance Panel v2 ou du séquençage métagénomique aléatoire sont présentés. Deux ou trois réplicats de six échantillons cliniques ont été séquencés sur NextSeq 550 System avec des Flow Cell à débit élevé. Les données de séquençage ont été normalisées à un total de 1 million de lectures. DENV, virus de la dengue; HSV1, virus de l'herpès simplex de type 1; HSV2, virus de l'herpès simplex de type 2; Grippe A, virus de la grippe A; VRSH-A, virus respiratoire syncytial humain A; VIH-1, virus de l'immunodéficience humaine ; NP, nasopharyngé; VSPv2, Viral Surveillance Panel v2.

Surveillance des eaux usées

La surveillance des séquences virales dans les eaux usées fournit un indicateur régional de la propagation communale des agents pathogènes, donnant aux professionnels de santé publique des renseignements précieux pour la planification des interventions⁹. Viral Surveillance Panel peut être utilisé avec ces échantillons pour permettre la détection précoce et l'identification des génomes viraux dans les eaux usées à des concentrations inférieures à celles du séquençage aléatoire (tableau 4).

Les échantillons d'eaux usées de deux sites de prélèvement ont été recueillis et extraits en collaboration avec le Laboratoire d'hygiène du Wisconsin (WSLH, Wisconsin State Lab of Hygiene) et l'Université du Colorado (CSU, Colorado State University). Trois échantillons de chaque site de prélèvement ont été évalués. Les bibliothèques préparées à partir de ces six échantillons d'eaux usées ont été séquencées et normalisées pour atteindre un total

de 8 millions de lectures pour l'enrichissement à l'aide de Viral Surveillance Panel v2 ou un total de 8 millions et 25 millions de lectures pour le séquençage métagénomique aléatoire. Une profondeur de séquençage de 8 millions de lectures au total a été utilisée dans cette comparaison, car les échantillons d'eaux usées peuvent varier considérablement en complexité et peuvent contenir des dizaines de virus à faible abondance. Viral Surveillance Panel v2 a démontré une sensibilité accrue de détection virale dans un type d'échantillon complexe prélevé du milieu avec une faible charge virale globale par rapport au séquençage métagénomique aléatoire, même lorsque le nombre total de lectures pour le séquençage métagénomique aléatoire était multiplié par six environ (tableau 4).

Tableau 4 : Principaux virus détectés dans les eaux usées à l'aide du Viral Surveillance Panel v2 ou du séquençage métagénomique aléatoire

Virus (souche)	8 millions de lectures au total				25 millions de lectures au total	
	Viral Surveillance Panel v2		Séquençage métagénomique aléatoire		Séquençage métagénomique aléatoire	
	Couverture génomique (%)	Nombre de lectures	Couverture génomique (%)	Nombre de lectures	Couverture génomique (%)	Nombre de lectures
Sapovirus (GII.1)	99,7	219 539	50,0	57	84,2	360
Adénovirus humain de l'espèce F (adénovirus humain 41)	100	104 693	6,4	18	23,6	72
Coronavirus humain OC43 (HCoV_OC43)	98,1	23 857	0	0	10,0	26
Sapovirus (GV)	99,6	10 750	0	0	25,3	19
Adénovirus humain de l'espèce E	88,4	6 733	0	0	0	0
Polyomavirus JC (JCPyV)	99,3	5 834	0	0	0	0
Mamastrovirus 9 (MAstV9)	99,2	4 959	0	0	0	0
Mamastrovirus 1 (MAstV1)	98,6	3 972	7,5	5	22,0	13
Adénovirus humain de l'espèce A (adénovirus humain 31)	81,1	3 449	0	0	0	0
Mamastrovirus 6 (MAstV6) [MLB1]	97,2	3 181	0	0	17,3	9
Norovirus (G1)	96,9	1 972	0	0	0	0
Polyomavirus BK (BKPyV)	100	1 522	0	0	11,1	4
Mamastrovirus 8 (MAstV8) [VA2]	92,1	1 208	0	0	6,1	4
Virus du papillome humain 59 (VPH59; risque élevé)	69,3	1 015	0	0	0	0
Entérovirus A (pas Coxsackievirus) [Entérovirus A71]	70,0	295	5,1	4	9,0	6

Résumé

Viral Surveillance Panel v2 fait partie d'un flux de travail optimisé et complet pour détecter les épidémies virales, la surveillance zoonotique et le suivi des mutations. La trousse comprend des sondes de capture hybride pour identifier environ 200 génomes de virus à ARN et à ADN qui ont été désignés comme présentant des risques élevés pour la santé publique. L'enrichissement de la cible par capture hybride réduit la nécessité d'une profondeur de lecture élevée de l'échantillon en se concentrant sur les séquences cibles, diminuant ainsi les coûts tout en augmentant le débit. Le flux de travail rationalisé est compatible avec une gamme de types d'échantillons et d'applications, notamment la surveillance des échantillons cliniques et des eaux usées pour la présence régionale de virus. Les données générées à l'aide de Viral Surveillance Panel v2 peuvent être analysées à l'aide de l'application conviviale DRAGEN Microbial Enrichment Plus sur BaseSpace Sequence Hub. Ce flux de travail de SNG fiable offre d'excellentes performances de capture virale pour l'identification de l'ADN et de l'ARN dans des échantillons complexes, offrant aux organismes de santé publique et aux chercheurs une alternative avancée au séquençage aléatoire.

En savoir plus

[Viral Surveillance Panel v2](#)

[Application DRAGEN Microbial Enrichment Analysis Plus](#)

[Systèmes de séquençage d'Illumina](#)

Renseignements relatifs à la commande

Produit	N° de référence
Illumina Viral Surveillance Panel v2 Kit, Set A (96 échantillons)	20108081
Illumina Viral Surveillance Panel v2 Kit, Set B (96 échantillons)	20108082
Illumina Viral Surveillance Panel v2 Kit, Set C (96 échantillons)	20108083
Illumina Viral Surveillance Panel v2 Kit, Set D (96 échantillons)	20108084
Illumina Viral Surveillance Panel v2, Panel Only (96 échantillons)	20123403

Références

- 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](#). Publié le 30 juillet 2024. Consulté le 9 août 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](#). Consulté le 9 août 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](#). Mis à jour le 31 juillet 2024. Consulté le 9 août 2024.

6. Africa Centers for Disease Control and Prevention. Diseases information. africacdc.org/disease/. Consulté le 9 août 2024.
7. Données internes. 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.



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

© 2024 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-02882 FRA v1.0