

Viral Surveillance Panel v2

Secuenciación del genoma completo optimizada para la vigilancia e investigación víricas de alto riesgo

- El panel ampliado proporciona cobertura de aproximadamente 200 virus, incluidos los preocupantes para la salud pública.¹⁻⁶
- El enriquecimiento de captura híbrida se adapta a los patógenos víricos de ARN y ADN.
- El flujo de trabajo integrado admite una amplia gama de tipos de muestras medioambientales y de huéspedes.⁷



Identificación de virus de alto impacto para vigilancia en la sanidad pública

La vigilancia del genoma vírico desempeña un papel fundamental en la seguridad sanitaria global al proporcionar información valiosa sobre la evolución, la propagación y el comportamiento de los patógenos.¹ El análisis de la composición genética de los virus mediante secuenciación de nueva generación (NGS, next-generation sequencing) permite a los científicos realizar un seguimiento de las mutaciones que pueden afectar a la transmisibilidad, la virulencia o la resistencia al tratamiento.⁸ Esta información es crucial para diseñar pruebas diagnósticas, tratamientos y vacunas eficaces para combatir las enfermedades infecciosas emergentes.

Viral Surveillance Panel v2 de Illumina es un panel de NGS que permite la detección y secuenciación del genoma completo (WGS, whole-genome sequencing) de aproximadamente 200 virus (lista completa disponible [aquí](#)), incluidos los virus identificados como riesgos importantes para la salud pública¹⁻⁶ (tabla 1). El panel utiliza un flujo de trabajo de enriquecimiento de objetivos de captura híbrida que permite la secuenciación de varios tipos de muestras sin la gran profundidad de lectura requerida por la secuenciación metagenómica indiscriminada. En comparación con otros métodos de resecuenciación selectiva, como la secuenciación de amplicones, la captura híbrida proporciona una cobertura más uniforme a través de los genomas víricos, y una mayor capacidad para identificar mutaciones y secuencias divergentes, lo que hace que Viral Surveillance Panel v2 sea ideal para la vigilancia de brotes y la supervisión de variantes.

Flujo de trabajo de NGS optimizado

El flujo de trabajo de Viral Surveillance Panel v2 enriquece los genomas víricos de una serie de tipos de muestras, incluidas aguas residuales, suero, plasma, lesiones cutáneas e hisopos nasofaríngeos.⁷ Las librerías se preparan a partir de ARN o ADN extraído de muestras del huésped o del entorno, se secuencian en un sistema de secuenciación de sobremesa de Illumina y se analizan con la aplicación DRAGEN™ Microbial Enrichment Plus disponible en BaseSpace™ Sequence Hub. Los pasos de preparación y secuenciación de librerías se pueden realizar en dos días con un tiempo de participación activa mínimo⁷ (figura 1).

Preparación de librerías

El flujo de trabajo de preparación de librerías de Viral Surveillance Panel v2 consta de pasos de preenriquecimiento y enriquecimiento. El preenriquecimiento genera cientos de miles de librerías no específicas que se enriquecen con sondas Viral Surveillance Panel v2 mediante un enfoque de captura híbrida. El enriquecimiento con tagmentación en bolas ofrece un flujo de trabajo rápido y compatible con la automatización que se puede realizar en aproximadamente dos días con un tiempo de participación activa mínimo. El protocolo admite cantidades de aporte de muestras que oscilan entre 10 ng y 100 ng de ácido nucleico total y admite la multiplexación de hasta 384 muestras en un experimento único.



Figura 1: Flujo de trabajo de Viral Surveillance Panel v2. En un flujo de trabajo optimizado y completo, las librerías se preparan a partir de muestras del entorno o del huésped, se secuencian en un sistema de secuenciación de Illumina y se analizan con la aplicación DRAGEN Microbial Enrichment Plus 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 la muestra y el sistema de secuenciación que se use.

Tabla 1: Virus clave de alto riesgo incluidos en Viral Surveillance Panel v2

Virus adenoasociado 2	Adenovirus humano A–G	Virus Mayaro	Virus Sabiá
Virus Aichi 1	Bocavirus humano	Virus del sarampión	Salivirus A
Virus de Aigai	Coronavirus humano	Virus Menangle	Flebovirus siciliano
Virus Bombali	Citomegalovirus humano	Coronavirus del síndrome respiratorio de Oriente Medio	Sapovirus
Virus Bourbon	Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1/2	Virus de la viruela símica	Coronavirus relacionado con el síndrome respiratorio agudo grave
Virus Cache Valley	Metapneumovirus humano	Virus de las paperas	Coronavirus relacionado con el síndrome respiratorio agudo grave 2
Virus de la encefalitis californiana	Virus del papiloma humano	Virus de la encefalitis de Murray Valley	Virus del bosque Semliki
Virus Chapare	Virus paragripal humano 1–4	Virus Nipah	Virus del síndrome de trombocitopenia febril grave
Virus chikunguña	Parecovirus humano	Norovirus	Virus Sindbis
Virus de la fiebre por garrapatas de Colorado	Parvovirus humano B19	Virus de la fiebre hemorrágica de Omsk	Virus de la liebre americana
Virus de Coxsackie A/B	Virus de la gripe A–C	Virus Onyong-nyong	Virus Sosuga
Virus de la fiebre hemorrágica de Crimea-Congo	Virus de Jamestown Canyon	Virus del Oropouche	Virus de la encefalitis de St. Louis
Virus del dengue 1–4	Virus de la encefalitis japonesa	Poliovirus	Virus de la garrapata de Tacheng 2
Virus del Ébola	Virus Junín	Poliomavirus	Virus Tahyna
Virus ECHO	Virus de la enfermedad de la selva de Kyasanur	Virus de Powassan	Virus de la encefalitis transmitida por garrapatas
Enterovirus A-D	Virus de La Crosse	Virus Punta Toro	Virus Torque Teno
Virus de Epstein-Barr	Virus de Lassa	Virus de la rabia	Virus de Toscana
Virus de la encefalitis equina	Virus Lloviu	Virus de Ravn	Virus Usutu
Virus Guanarito	Virus Lujo	Virus respiratorio sincicial A/B	Virus de la varicela-zóster
Hantavirus	Virus de la coriomeningitis linfocítica	Rhinovirus A-C	Virus variola
Virus Heartland	Lisavirus	Virus de la fiebre del Valle del Rift	Virus del Nilo Occidental
Henipavirus	Virus Machupo	Virus del río Ross	Virus de la fiebre amarilla
Virus de la hepatitis A-E	Mamastrovirus	Rotavirus A/B/C/H	Virus de Zika
Virus del herpes simple 1/2	Virus de Marburgo	Virus de la rubéola	

Secuenciación

Los requisitos de menor profundidad de lectura para las librerías enriquecidas con Viral Surveillance Panel v2 permiten múltiples opciones de sistemas de secuenciación, incluidos MiniSeq™ System, MiSeq™ System, NextSeq™ 550 System, NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 System. La titulación 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 totales por muestra con una longitud de lectura de 2 × 150 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 8 millones de lecturas totales por muestra. Se espera que se produzcan lecturas no objetivo abundantes si hay otros ácidos nucleicos microbianos presentes, como las de bacterias que se encuentran en tipos de muestras complejas.

Análisis de datos

Los datos generados con Viral Surveillance Panel v2 se analizan con la aplicación DRAGEN Microbial Enrichment Plus, disponible en BaseSpace Sequence Hub. Este proceso de análisis, de fácil uso, proporciona control de calidad de muestras, alineación guiada por referencia con una amplia base de datos de genoma vírico seleccionada, llamada de variantes, generación de secuencias de consenso del genoma vírico, predicción de resistencia antivírica para virus de la gripe A/B, opciones de generación de informes flexibles e integración con Pangolin y Nextclade para una asignación filogenética adicional de virus compatibles.

Rendimiento

Enriquecimiento de objetivos

En comparación con la secuenciación metagenómica indiscriminada, en la que se secuencian todos los ARN o ADN, la captura híbrida selectiva utilizada por Viral Surveillance Panel v2 reduce al mínimo 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.⁷

Para evaluar el rendimiento del Viral Surveillance Panel v2, las muestras víricas multidiana se confeccionaron con diferentes números de copias en presencia de un alto fondo de ARN (10 ng) y ADN (10 ng) humanos (tabla 2).

La recuperación del genoma vírico mediante enriquecimiento con Viral Surveillance Panel v2 se comparó con la secuenciación metagenómica indiscriminada sin enriquecimiento. Viral Surveillance Panel v2 demostró una recuperación del genoma vírico superior a partir de muestras artificiales multidiana en comparación con la secuenciación metagenómica indiscriminada (figura 2). Utilizando el método Viral Surveillance Panel v2, se recuperó, de media, el 99,1 % del genoma del adenovirus humano E y el 99,4 % del genoma del virus de la gripe A (H3N2), en seis réplicas con 1000 copias del genoma por reacción (figura 2A, 2C). La secuenciación metagenómica indiscriminada demostró una cobertura del genoma significativamente menor para la misma titulación vírica. En réplicas con 1000 copias del genoma por reacción, se recuperó de media solo el 1,9 % del genoma del adenovirus humano E y el 0 % del genoma del virus de la gripe A (H3N2) (figura 2B, 2D).

Tabla 2: Material de control vírico cuantitativo utilizado para evaluar el rendimiento de Viral Surveillance Panel v2

Cepa de referencia	Material de control vírico	Proveedor	N.º de catálogo
Adenovirus humano 4, cepa RI-67	ADN genómico cuantitativo	ATCC	VR-1572DG
Virus de la gripe A (H3N2), cepa A/Wisconsin/15/2009	ARN genómico cuantitativo	ATCC	VR-1882DQ

Muestras de restos clínicos

El flujo de trabajo flexible de Viral Surveillance Panel v2 admite ARN, ADN y ácido nucleico total extraído de múltiples tipos de muestras clínicas, incluidos plasma, suero, lesiones cutáneas e hisopos nasofaríngeos. Al reducir la proporción de lecturas del huésped secuenciadas y enriquecer las lecturas víricas selectivas, Viral Surveillance Panel v2 muestra una mayor cobertura del genoma vírico y una mayor mediana de la profundidad de cobertura. Para evaluar el rendimiento de Viral Surveillance Panel v2 se utilizaron muestras de restos clínicos con virus preidentificados (tabla 3). Todas las muestras de restos clínicos enriquecidas con Viral Surveillance Panel v2 demostraron una mayor sensibilidad de detección vírica en diferentes virus (con la excepción del virus de la inmunodeficiencia humana 1) y tipos de muestras, en comparación con la secuenciación metagenómica indiscriminada (figura 3).

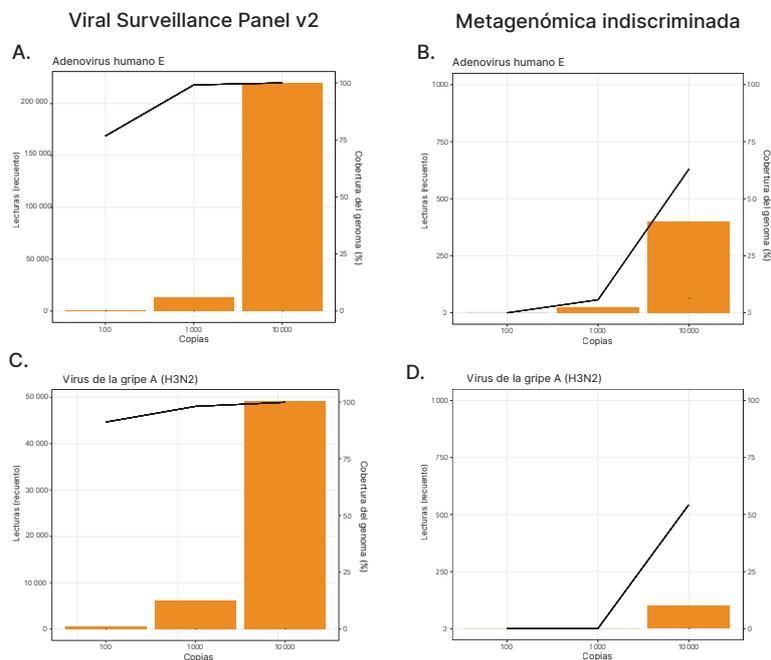


Figura 2: Recuentos de lecturas y ganancias de cobertura del genoma vírico mediante Viral Surveillance Panel v2. Rendimiento de Viral Surveillance Panel v2 y la secuenciación indiscriminada sin enriquecimiento en comparación con muestras artificiales multidiaria disponibles en el mercado. (A) Adenovirus humano 4 (cepa RI-67) enriquecido con Viral Surveillance Panel v2, (B) Adenovirus humano 4 (cepa RI-67) secuenciado por metagenómica indiscriminada sin enriquecimiento, (C) Virus de la gripe A (H3N2) enriquecido con Viral Surveillance Panel v2, (D) Virus de la gripe A (H3N2) secuenciado por metagenómica indiscriminada sin enriquecimiento. Se secuenciaron seis réplicas a 1000 copias/nivel de reacción de cada muestra artificial en NextSeq 550 System con celdas de flujo de alta productividad. Los datos de secuenciación se normalizaron a un total de 2 millones de lecturas.

Tabla 3: Muestras de restos clínicos utilizadas para evaluar el rendimiento de Viral Surveillance Panel v2

Virus preidentificado	Tipo de muestra	Kit de extracción	Aporte de muestras
Virus del herpes simple 1	Lesión cutánea	ZymoBIOMICS DNA/RNA Miniprep	Ácido nucleico total
Virus del herpes simple 2	Lesión cutánea	ZymoBIOMICS DNA/RNA Miniprep	Ácido nucleico total
Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1	Plasma/suero	MagMAX Microbiome UltraNucleic Acid Isolation Kit	DNA, RNA
Virus del dengue	Suero	QIAmp Viral RNA Kit	ARN
Virus respiratorio sincitial humano A	Hisopo nasofaríngeo	QIAmp Viral RNA Kit	ARN
Virus de la gripe A (H3N2)	Hisopo nasofaríngeo	QIAmp Viral RNA Kit	ARN

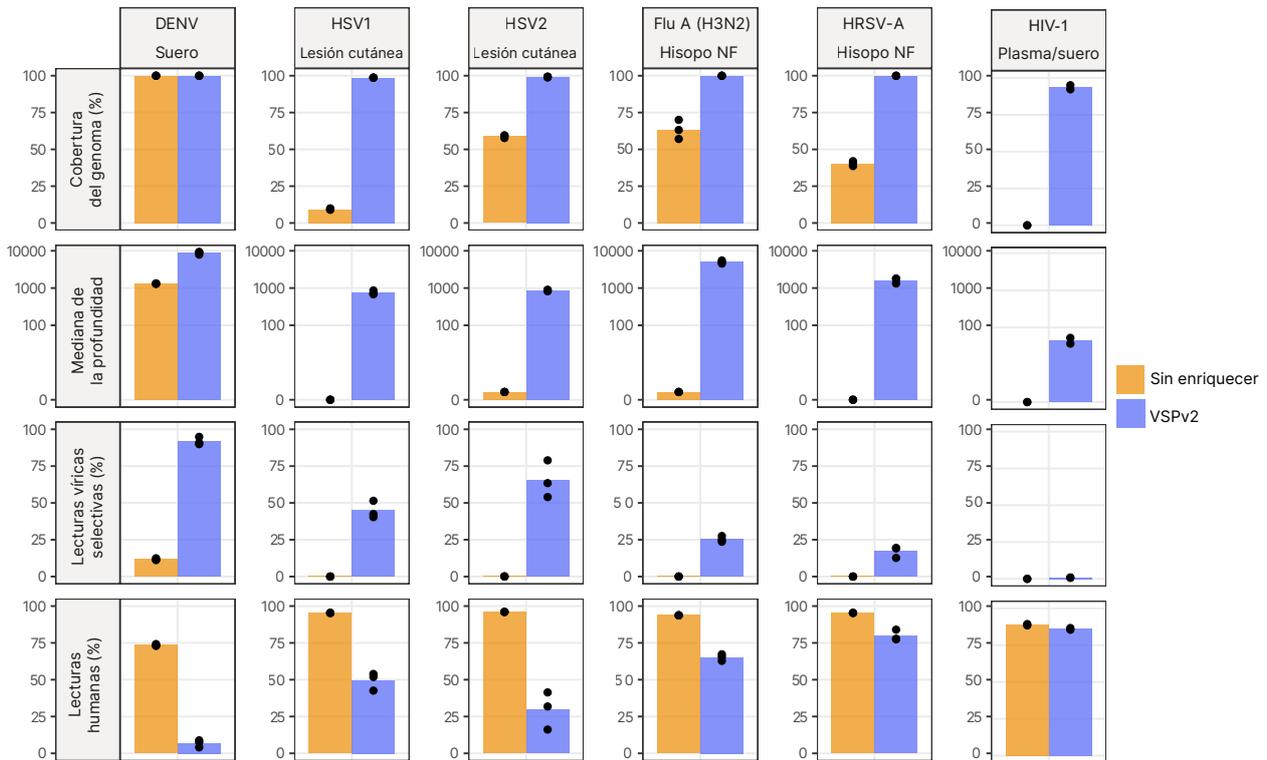


Figura 3: Rendimiento de Viral Surveillance Panel v2 con muestras de restos clínicos. Se muestran la cobertura del genoma, las lecturas víricas selectivas, la mediana de la profundidad y el porcentaje de lecturas humanas obtenidas mediante Viral Surveillance Panel v2 o la secuenciación metagenómica indiscriminada. Se secuenciaron dos o tres réplicas de seis muestras clínicas en NextSeq 550 System con celdas de flujo de alto rendimiento. Los datos de secuenciación se normalizaron a un total de 1 millón de lecturas. DENV, virus del dengue; HSV1, virus del herpes simple 1; HSV2, virus del herpes simple 2; Flu A, gripe A; HRSV-A, virus respiratorio sincitial humano A; HIV-1, virus de la inmunodeficiencia humana; NF, nasofaríngeo; VSPv2, Viral Surveillance Panel v2.

Vigilancia de las aguas residuales

La vigilancia de secuencias víricas en aguas residuales proporciona un indicador regional de la propagación comunitaria de patógenos víricos, lo que da a los profesionales de la sanidad pública información valiosa para la planificación de la respuesta.⁹ El panel de vigilancia vírica se puede utilizar 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 4).

Las muestras de aguas residuales de dos centros de recogida se recogieron y extrajeron mediante colaboraciones con el Wisconsin State Lab of Hygiene (WSLH) y la Colorado State University (CSU). Se evaluaron tres muestras de cada centro de recogida. Las librerías preparadas a partir de estas seis muestras de aguas residuales se secuenciaron y normalizaron a un total de 8 millones de lecturas para el enriquecimiento con Viral Surveillance Panel v2 o a un total de 8 millones y 25 millones de lecturas para la secuenciación metagenómica indiscriminada.

En esta comparación se utilizó una profundidad de secuenciación de 8 millones de lecturas totales porque las muestras de aguas residuales pueden variar enormemente en complejidad y pueden contener docenas de virus con poca abundancia. Viral Surveillance Panel v2 demostró una mayor sensibilidad de detección vírica en un tipo de muestra medioambiental compleja con una carga vírica general baja en comparación con la secuenciación metagenómica indiscriminada, incluso cuando las lecturas totales de la secuenciación metagenómica indiscriminada se multiplicaron prácticamente por seis (tabla 4).

Tabla 4: Principales virus detectados en las aguas residuales mediante Viral Surveillance Panel v2 o la secuenciación indiscriminada

Virus (cepa)	8 millones de lecturas totales				25 millones de lecturas totales	
	Viral Surveillance Panel v2		Metagenómica indiscriminada		Metagenómica indiscriminada	
	Cobertura del genoma (%)	Recuento de lecturas	Cobertura del genoma (%)	Recuento de lecturas	Cobertura del genoma (%)	Recuento de lecturas
Sapovirus (GI.1)	99,7	219 539	50,0	57	84,2	360
Adenovirus humano F (adenovirus humano 41)	100	104 693	6,4	18	23,6	72
Coronavirus humano OC43 (HCoV_OC43)	98,1	23 857	0	0	10,0	26
Sapovirus (GV)	99,6	10 750	0	0	25,3	19
Adenovirus humano E	88,4	6733	0	0	0	0
Poliovirus JC (JCPyV)	99,3	5834	0	0	0	0
Mamastrovirus 9 (MAstV9)	99,2	4959	0	0	0	0
Mamastrovirus 1 (MAstV1)	98,6	3972	7,5	5	22,0	13
Adenovirus humano A (adenovirus humano 31)	81,1	3449	0	0	0	0
Mamastrovirus 6 (MAstV6) [MLB1]	97,2	3181	0	0	17,3	9
Norovirus (G1)	96,9	1972	0	0	0	0
Poliovirus BK (BKPyV)	100	1522	0	0	11,1	4
Mamastrovirus 8 (MAstV8) [VA2]	92,1	1208	0	0	6,1	4
Virus del papiloma humano 59 (VPH59; riesgo elevado)	69,3	1015	0	0	0	0
Enterovirus A (no Virus de Coxsackie) [Enterovirus A71]	70,0	295	5,1	4	9,0	6

Resumen

Viral Surveillance Panel v2 forma parte de un flujo de trabajo optimizado y completo para detectar brotes víricos, vigilancia zoonótica y seguimiento de mutaciones. El kit incluye sondas de captura híbrida para identificar aproximadamente 200 genomas de virus de ARN y ADN que se han designado como de alto riesgo para la salud pública. El enriquecimiento selectivo de captura híbrida minimiza la necesidad de una alta profundidad de lectura de muestras al centrarse en las secuencias objetivo, lo que reduce los costes y aumenta el rendimiento. El flujo de trabajo optimizado es compatible con una serie de tipos de muestras y aplicaciones, incluidas las muestras clínicas y la vigilancia de las aguas residuales para detectar la presencia regional de virus. Los datos generados con Viral Surveillance Panel v2 se pueden analizar con la aplicación DRAGEN Microbial Enrichment Plus en BaseSpace Sequence Hub. Este sólido flujo de trabajo de NGS ofrece un excelente rendimiento de captura vírica para identificar ADN y ARN en muestras complejas, lo que proporciona a las organizaciones de salud pública y a los investigadores una alternativa avanzada a la secuenciación indiscriminada.

Más información

[Viral Surveillance Panel v2](#)

[Aplicación DRAGEN Microbial Enrichment Analysis Plus](#)

[Sistemas de secuenciación de Illumina](#)

Datos para realizar pedidos

Producto	N.º de 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

Bibliografía

- 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.
- Organización Mundial de la Salud. [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](#). Fecha de publicación: 30 de julio de 2024. Fecha de consulta: 9 de agosto de 2024.
- Organización Mundial de la Salud. [Prioritizing diseases for research and development in emergency contexts](#). [who.int/activities/prioritizing-diseases-for-research-and-development-in-emergency-contexts](#). Fecha de consulta: 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.
- Organización Mundial de la Salud. [Disease Outbreak News](#). [who.int/emergencies/disease-outbreak-news](#). Fecha de actualización: 31 de julio de 2024. Fecha de consulta: 9 de agosto de 2024.

6. Africa Centers for Disease Control and Prevention. Diseases information. africacdc.org/disease/. Fecha de consulta: 9 de agosto de 2024.
7. Datos recopilados. 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 (Lausana)*. 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 (llamada gratuita, EE. UU.) | tel.: +1 858 202 4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2024 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-02882 ESP v1.0