

Viral Surveillance Panel

Séquençage du génome entier (WGS) simplifié des virus à impact important en utilisant l'enrichissement par capture hybride

- Couverture de 66 virus identifiés comme présentant un risque élevé pour la santé publique
- Enrichissement ciblé pour les pathogènes viraux à ARN et ADN
- Compatible avec une gamme de types d'échantillons prélevés de l'hôte et du milieu

illumina[®]

Surveiller les menaces virales pour la santé publique

L'épidémie de SARS-CoV-2 de 2019 et l'épidémie du virus de la variole simienne de 2022 ont démontré le besoin criant de disposer d'un système d'avertissement précoce des agents pathogènes et d'outils pour surveiller et évaluer les épidémies. Le séquençage de nouvelle génération (SNG) constitue une approche efficace pour le criblage des échantillons et la détection des virus sans nécessiter de connaissances préalables sur l'agent infectieux. Les renseignements détaillés fournis par le séquençage de nouvelle génération (SNG) permettent l'utilisation d'importantes applications de caractérisation et de surveillance, notamment :

- le séquençage réflexe d'échantillons positifs connus lors d'épidémies;
- le suivi des sources d'infection et des voies de transmission;
- la surveillance de l'évolution virale et de la résistance aux antiviraux.

Le Viral Surveillance Panel permet la détection par séquençage de nouvelle génération (SNG) de 66 génomes viraux, dont des virus identifiés comme des risques importants pour la santé publique par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) ([tableau 1](#))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 de l'échantillon 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 également une couverture plus uniforme des génomes, des panels de sonde beaucoup plus larges et une plus grande capacité à identifier les mutations et les séquences connexes, ce qui rend le Viral Surveillance Panel idéal pour la surveillance des épidémies.

Flux de travail de séquençage de nouvelle génération (SNG) complet et intégré

Le flux de travail du Viral Surveillance Panel permet d'enrichir les génomes viraux à partir d'une série d'échantillons prélevés de l'hôte et du milieu, y compris les eaux usées². Les étapes de séquençage de la préparation de la librairie peuvent être réalisées en deux jours sur des systèmes de séquençage de table ([figure 1](#)).

Tableau 1 : Inclus dans le Viral Surveillance Panel¹.

Adénovirus	Virus de l'hépatite B	Parechovirus
Aichivirus	Virus de l'hépatite C	Parvovirus
Astrovirus	Virus de l'hépatite E	Poliovirus
Coronavirus-229E	Virus de la grippe de type A	Rhinovirus
Coronavirus-HKU1	Virus de la grippe de type B	Virus de la fièvre de la vallée du Rift
Coronavirus-OC43	Virus de l'encéphalite japonaise	Rotavirus
Coronavirus-NL63	Virus junin	Virus de la rubéole
Coxsackievirus	Virus de la maladie de la forêt de Kyasanur	Virus Sabia
Entérovirus	Virus Nipah	Virus de l'encéphalite équine du Venezuela
Hantavirus	Virus de la fièvre hémorragique d'Omsk	Virus de l'encéphalite équine de l'Ouest
Henipavirus Hendra	Virus oncolytique du papillome humain	Virus de la fièvre jaune
Virus Chapare	Virus de l'immunodéficience humaine 1	Polyomavirus
Virus Chikungunya	Virus de l'immunodéficience humaine 2	Virus respiratoire syncytial
Virus de la dengue 1	Virus de la fièvre hémorragique de (type) Lujo	Sapovirus
Virus de la dengue 2	Virus Machupo	SARS-COV
Virus de la dengue 3	Virus de Marburg	SARS-COV-2
Virus de la dengue 4	MERS-CoV	Virus de l'encéphalite transmis par les tiques
Virus de la fièvre hémorragique de Crimée-Congo	Virus de la fièvre de Lassa	Salivirus
Virus de l'encéphalite équine de l'Est	Métapneumovirus	Virus Torque Teno
Virus de l'hépatite A	Virus parainfluenza	Virus Zika
Virus Ébola	Virus de la variole simienne	Virus de la variole
Virus Guanarito	Norovirus	Virus du Nil occidental



Figure 1 : Flux de travail du Viral Surveillance Panel : dans le cadre d'un flux de travail rationalisé et complet, les librairies sont préparées à partir d'échantillons de l'environnement ou de l'hôte, séquencées à l'aide de n'importe quel système de séquençage Illumina et analysées avec le pipeline BaseSpace Microbial Enrichment 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.

Préparation de la librairie

Le Viral Surveillance Panel suit le même protocole de préparation de la librairie que [Respiratory Virus Oligo Panel](#) d'Illumina³. Illumina RNA Prep with Enrichment utilise la tagmentation sur billes suivi d'une seule étape de l'hybridation afin de fournir un flux de travail rapide pour générer des librairies enrichies. RNA Prep d'Illumina avec enrichissement fournit :

- un flux de travail rapide, compatible avec l'automatisation, qui peut être réalisé en deux jours environ, avec une durée de manipulation minimale;
- une quantité d'entrée d'échantillon flexible allant de 10 ng à 100 ng d'acide nucléique total;
- un débit évolutif qui permet le multiplexage des échantillons pouvant aller jusqu'à 384 échantillons en une analyse unique.

Séquençage

La faible profondeur de lecture requise pour les librairies enrichies à l'aide du VSP permet de choisir parmi plusieurs systèmes de séquençage, dont les systèmes de table MiniSeq^{MC}, MiSeq^{MC}, NextSeq^{MC} 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 d'extrémités appariées par échantillon avec une longueur de lecture de 149 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 4 millions de lectures appariées est recommandé par échantillon.

Analyse des données

Le Viral Surveillance Panel est compatible avec le pipeline d'analyse secondaire Microbial Enrichment, disponible sur [BaseSpace^{MC} Sequence Hub](#). Le pipeline Microbial Enrichment fournit un assemblage des contigs, des séquences consensus et une couverture génomique pour les génomes viraux figurant dans le panel.

Performance

Enrichissement de la cible

L'enrichissement de la cible par capture hybride pour le Viral Surveillance Panel est effectué avec l'Illumina RNA Prep with Enrichment Kit. Par rapport au séquençage métagénomique aléatoire, où tout l'ARN ou l'ADN est séquencé, la capture hybride ciblée réduit le séquençage inutile des microbes hôtes et non ciblés, ce qui réduit les coûts et permet le séquençage à grande échelle de génome viraux sur des systèmes de séquençage de table ([figure 2](#)).

Le séquençage du génome entier (WGS, whole-genome sequencing) de plusieurs virus à la fois permet la surveillance et l'analyse de l'évolution virale. Les sondes d'enrichissement de la cible du Viral Surveillance Panel offrent une couverture uniforme des génomes entiers des virus ([figure 3](#)). En outre, les oligo-sondes utilisées pour les protocoles de capture hybride restent efficaces dans les régions mutées, ce qui permet de capturer des virus qui évoluent rapidement comme les virus à ARN.

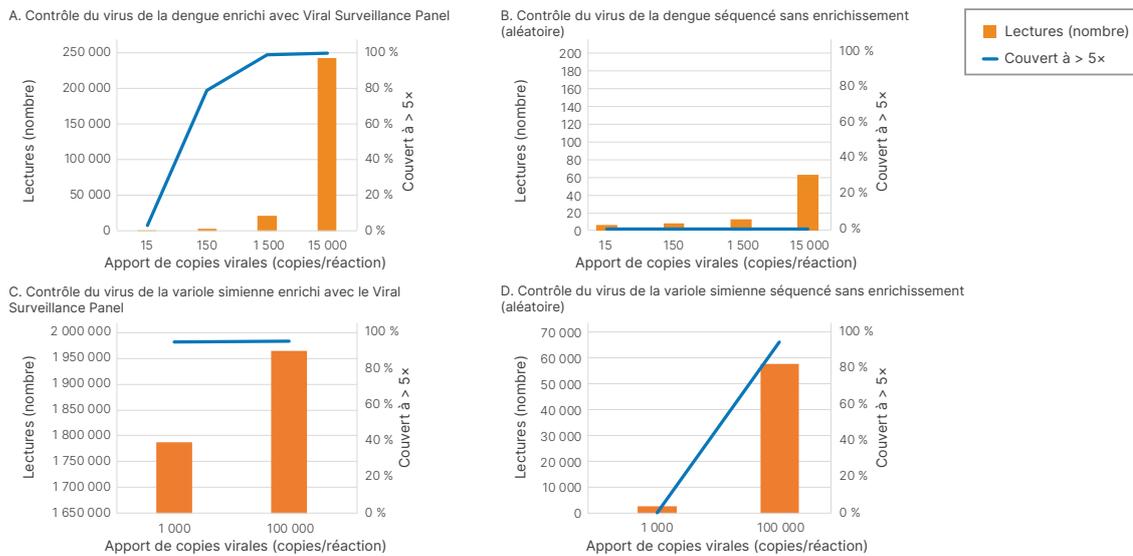
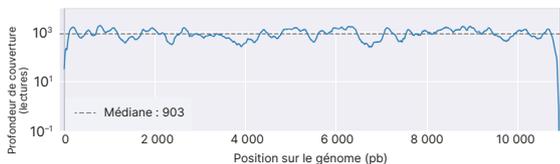


Figure 2 : Les bénéfices du nombre de lectures et de couvertures du génome viral à l'aide du Viral Surveillance Panel : la performance du Viral Surveillance Panel et du séquençage sans enrichissement comparés à l'aide de contrôles viraux disponibles dans le commerce. (A) Contrôle du virus de la dengue mélangé à 10 ng d'ARN humain et enrichi avec le Viral Surveillance Panel, (B) Contrôle du virus de la dengue mélangé à 10 ng d'ARN humain et séquençé sans enrichissement, (C) Contrôle du virus de la variole simienne mélangé à 10 ng d'ARN humain et 10 ng d'ADN humain et enrichi avec le Viral Surveillance Panel, (D) Contrôle du virus de la variole simienne séquençé sans enrichissement mélangé à 10 ng d'ARN humain et 10 ng d'ADN humain et séquençé sans enrichissement. Les échantillons ont été séquençés et les données normalisées à 2 millions de lectures d'extrémités appariées à 2×149 pb.

A. Contrôle du virus de la dengue : 15 milles copies du virus mélangées avec 10 ng d'ARN humain



B. Contrôle de l'adénovirus, 75 milles copies du virus mélangées avec 10 ng d'ARN humain et 10 ng d'ADN



C. Contrôle du virus du Chikungunya, 20 milles copies du virus mélangées avec 10 ng d'ARN humain



Figure 3 : Génome viral uniforme après enrichissement à l'aide du Viral Surveillance Panel : les contrôles de virus ont été préparés en mélangeant des contrôles de virus à un nombre de copies connu avec 10 ng de mélange d'ARN ou d'ADN humain. Les librairies ont été préparées et séquençées en fonction du flux de travail du Viral Surveillance Panel.

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 la santé des renseignements précieux pour la planification des interventions. Le 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 2).

Résumé

Le Viral Surveillance Panel fournit un flux de travail optimisé et complet pour détecter et surveiller les éruptions virales. Le panel comprend des sondes de capture hybride pour 66 génomes entiers de virus à ARN et à ADN qui ont été identifiés comme présentant un risque élevé pour la santé publique¹. 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. Cela permet de réduire les coûts et d'augmenter les capacités de débit. Le flux de travail est également compatible avec une gamme de types d'échantillons et d'applications,

Tableau 2 : Virus détectés dans les eaux usées à l'aide du Viral Surveillance Panel ou du séquençage aléatoire^a.

	Viral Surveillance Panel	Séquençage aléatoire	Viral Surveillance Panel	Séquençage aléatoire
Virus identifié	Génome couvert $\geq 5\times$ (%)		Lectures (nombre)	
Astrovirus	98,9	0	122 525	7
Polyomavirus JC	98,9	0	29 749	0
Polyomavirus 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	7 873	0
Coxsackievirus A19	65,2	0	7 195	0
Norovirus GII.P7_GII.6	69,7	0	2 572	0
Virus de type Norwalk	57,3	0	1 191	0
Souche GI du norovirus	51,2	0	859	0

a. Les échantillons ont été collectés par des chercheurs de l'Université du Colorado et les acides nucléiques totaux purifiés ont été envoyés à Illumina pour être testés. Les librairies ont été préparées et séquencées en utilisant 100 ng d'acides nucléiques totaux

notamment la surveillance des eaux usées pour la présence régionale de virus. Enfin, le Viral Surveillance Panel est compatible avec le pipeline gratuit Microbial Enrichment Analysis sur BaseSpace Sequence Hub. Ce séquençage de nouvelle génération (SNG) offre aux organismes de santé publique et aux chercheurs une alternative avancée au séquençage aléatoire, coûteux et compliqué.

En savoir plus

Viral Surveillance Panel, 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

Applications BaseSpace, illumina.com/products/by-type/informatics-products/basespace-sequence-hub/apps.html

Plateformes de séquençage Illumina, illumina.com/systems/sequencing-platforms.html

Renseignements relatifs à la commande

Produit	N° de référence
Viral Surveillance Panel (96 échantillons)	20088154
Viral Surveillance Panel with Illumina RNA Prep with Enrichment Indexes Set A (96 échantillons)	20087932
Viral Surveillance Panel with Illumina RNA Prep with Enrichment Indexes Set B (96 échantillons)	20087929

Références

1. Bloom DE, Cadarette D. [Infectious Disease Threats in the Twenty-First Century: Strengthening the Global Response](#). *Front Immunol*. 2019;10:549. Published 2019 Mar 28. 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. Published 2021. Accessed September 13, 2022.

illumina®

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

© 2022 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-01240 FRA v1.0