

TruSight^{MC} Oncology 500 ctDNA

Profilage génomique complet à partir d'échantillons de biopsie liquide pour la recherche sur les tumeurs solides

- Tirez profit d'échantillons de sang, dont le prélèvement est non effractif, comme complément aux biopsies de tissus ou comme solution de rechange en cas de tissus difficiles à obtenir
- Testez les biomarqueurs d'ADN dans plus de 500 gènes et dans les signatures en immuno-oncologie comme la CMT et l'IMS
- Réalisez les limites inférieures de détection avec la préparation de bibliothèques par hybridation basée sur les IMU et le séquençage en profondeur sur le NovaSeq^{MC} 6000 System
- Passez de l'ADNa à l'interprétation du rapport en cinq jours grâce à un pipeline DRAGEN^{MC} exclusif et à plusieurs options pour l'analyse tertiaire et la génération de rapports

Introduction

La biopsie liquide permet l'analyse complète de l'ADN acellulaire (ADNa) circulant dans le plasma, offrant une approche non effractive pour le profilage de tumeurs solides. Pour tirer profit de la biopsie liquide, il est essentiel d'utiliser une analyse très sensible et spécifique capable de détecter les mutations somatiques à de basse fréquence. TruSight Oncology 500 ctDNA exploite la puissance de la technologie avérée de séquençage de nouvelle génération (SNG) d'Illumina pour obtenir cette grande sensibilité analytique et permet un profilage génomique complet de l'ADN tumoral circulant (ADNtc) que l'on retrouve dans l'ADNa (figure 1, tableau 1). En combinant cette solution de recherche de pointe avec la puissance bio-informatique du DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software les chercheurs cliniciens ont à leur disposition une solution « de l'ADN à la génération du rapport » pour évaluer de multiples types de variants parmi des centaines de gènes en un seul test (figure 2).

TruSight Oncology 500 ctDNA est compatible avec les réactifs de séquençage NovaSeq 6000 v1.5. En plus des augmentations d'efficacité d'exploitation qui entraînent des réductions potentielles du prix par échantillon > 35 %, ces réactifs offrent une durée de conservation prolongée de six mois et des scores Q30 améliorés¹.

La puissance de la biopsie liquide

Contrairement à une biopsie de tissus qui fournit des renseignements à propos d'une partie seulement de la tumeur, la biopsie liquide fournit des informations à propos de l'hétérogénéité inter et intratumorale dans tout le corps. Des études montrent que les analyses d'ADNa ont détecté un nombre important de biomarqueurs et de modifications à l'ADN liées à la résistance au traitement soulignées dans les lignes directrices et qu'on ne retrouvait pas dans les biopsies de tissus correspondants². De plus, une étude portant sur le cancer du poumon non à petites cellules a révélé que les analyses d'ADNa concordaient fortement avec les analyses de tissus³.

Une base de contenu complet

Le contenu de TruSight Oncology 500 ctDNA a été conçu en collaboration avec les autorités reconnues de la communauté oncologique et comprend les biomarqueurs actuels et en émergence avec une couverture complète des gènes que l'on retrouve dans les principales lignes directrices et dans les principaux essais cliniques pour de multiples types de tumeurs. La conception de la sonde de panel permet de capturer les fusions de gènes connues et nouvelles, et comprend 523 gènes pour la détection des variants susceptibles de jouer un rôle dans l'oncogenèse. Les biomarqueurs comprennent des petits variants, des insertions et suppressions (indel), des variants du nombre de copies (VNC), des fusions de gènes et des signatures génomiques complexes en immuno-oncologie, comme l'instabilité microsatellitaire (IMS) et la charge mutationnelle tumorale (CMT) (tableau 2).


 Pour connaître le contenu du panel, consultez la [Liste des gènes TruSight Oncology 500 ctDNA](#)



Figure 1 : La biopsie liquide permet le profilage de biomarqueurs pour de multiples types de variants et de cancers – Des algorithmes sophistiqués d'appel de variants et le séquençage en profondeur élevée permettent la détection de biomarqueurs importants dans l'ADNa avec 0,5 % de limite de détection (LDD).

Tableau 1 : TruSight Oncology 500 ctDNA en bref

Paramètre	TruSight Oncology 500 ctDNA
Système	NovaSeq 6000 System
Taille du panel	1,94 Mb d'ADN
Contenu du panel	523 gènes 59 gènes pour les VNC 23 gènes pour les fusions de gènes IMS (> 2 400 loci) CMT
Exigence d'entrée d'ADN	30 ng d'ADNa ^a
Type d'échantillon	ADNa dérivé du sang
Durée totale du test	5 jours de la préparation de librairie au rapport de variants
Durée de l'analyse de séquençage	36 h d'analyse globale, 10 h d'analyse (Flow Cell S2) 45 h d'analyse globale, 22 h d'analyse (Flow Cell S4)
Analyse de séquençage	2 × 151 pb
Version du logiciel	DRAGEN TruSight Oncology ctDNA v2.1.1
Débit d'échantillons	8 échantillons par analyse (Flow Cell S2) 24 échantillons par analyse (Flow Cell S4) 48 échantillons par trousse de préparation de librairies
Limite de détection	FAV de 0,5 % pour les petits variants Modification de facteur ≥ 1,4 pour l'amplification des gènes Modification de facteur ≤ 0,6 pour la suppression des gènes ≥ 2 % de fraction tumorale pour l'IMS
Sensibilité analytique	≥ 95 % (à la LDD pour tous les types de variant)
Spécificité analytique	≥ 95 %

a. Quantification recommandée avec systèmes TapeStation ou Fragment Analyzer d'Agilent.

Tableau 2 : Exemples de variants détectés à l'aide de TruSight Oncology 500 ctDNA

Type de variant	Exemples pertinents
SNV et indel	<i>EGFR, POLE, TMPRSS2, BRAF</i>
Fusions de gènes	<i>ALK, ROS1, NTRK, RET</i>
VNC	<i>HER2</i>
IMS	Score d'IMS
CMT	Score CMT

Pour voir la liste complète des gènes, consultez illumina.com/products/by-type/clinical-research-products/trusight-oncology-500-ctdna.html

Technologie éprouvée pour la détection des biomarqueurs de bas niveau

Basé sur les produits de traitement éprouvés de séquençage par synthèse (SBS, Sequencing by Synthesis) d'Illumina, TruSight Oncology 500 ctDNA permet le profilage génomique complet à partir de seulement 30 ng d'ADNa, en faisant une alternative idéale à utiliser lorsque le tissu n'est pas facile à obtenir ou en complément de l'analyse des tissus. La préparation de librairies tire profit de l'enrichissement des cibles à l'aide de sondes biotinylées et de billes magnétiques enduites de streptavidine pour enrichir des cibles sélectionnées de librairies basées sur l'ADN. L'enrichissement des cibles par capture hybride utilise des sondes qui sont suffisamment grandes pour conférer une spécificité de liaison élevée, mais aussi pour permettre l'hybridation de cibles contenant de petites mutations. Cette approche permet de réduire la perte d'échantillons en présence des variations naturelles d'allèles et des artefacts de séquençage.

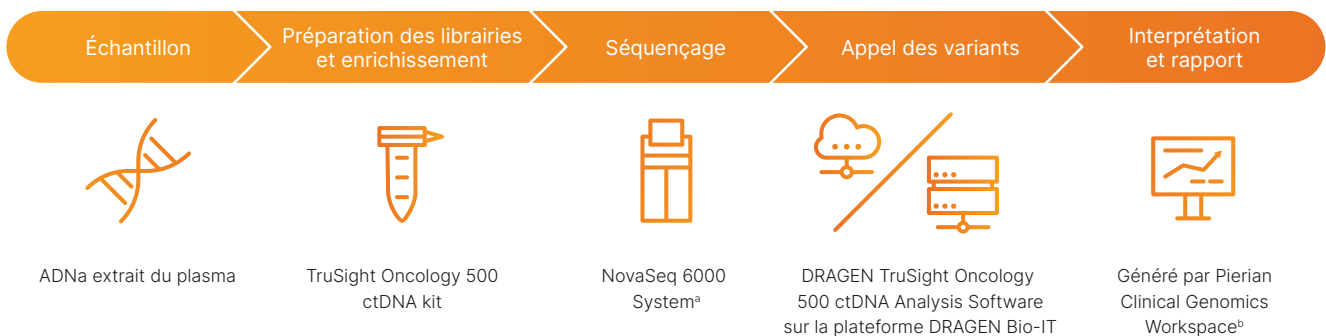


Figure 2 : Flux de travail du test TruSight Oncology 500 ctDNA – Le test TruSight Oncology 500 ctDNA s'intègre aux flux de travail des laboratoires actuels, passant de l'ADNa à un rapport de variants en cinq jours.

- a. Le NovaSeq 6000Dx System en mode RUO n'a pas fait l'objet d'un examen approfondi, mais est considéré comme étant compatible sur le plan technique. Il nécessite un serveur DRAGEN autonome distinct si une analyse secondaire au niveau local est souhaitée.
- b. N'est pas proposé dans tous les pays. Illumina Connected Insights prend en charge l'analyse tertiaire définie par l'utilisateur par le biais d'appels d'API à des sources de connaissances tierces.

Puisque l'ADNtc représente une petite fraction d'ADNa, des méthodes puissantes sont nécessaires pour séparer le signal du bruit. La préparation des bibliothèques intègre des identifiants moléculaires uniques (IMU) qui permettent l'identification de variants à des fréquences très basses⁴. Les bibliothèques TruSight Oncology 500 ctDNA sont séquencées sur le NovaSeq 6000 System à des profondeurs élevées (400 millions de lectures par échantillon à ~ 35 000x) pour améliorer la sensibilité. Le résultat est la capacité de détecter des mutations à une fréquence allélique des variants (FAV) de 0,5 % pour de petits variants, avec 95 % de sensibilité analytique et > 99,995 % de spécificité analytique (tableau 3).

Tableau 3 : Détection de variants de faible niveau avec un grand degré de précision

Type de variant	Sensibilité analytique ^a	Spécificité analytique ^b
Petits variants (≥ 0,5 % FAV)	≥ 95 %	≥ 99,995 %
Amplifications géniques (modification de facteur ≥ 1,4)	≥ 95 %	≥ 95 %
Suppressions de gène (modification de facteur ≤ 0,6)	≥ 95 %	≥ 95 %
Fusions de gènes (0,5 %)	≥ 95 %	≥ 95 %
Détection élevée d'IMS (≥ à 2 % de fraction tumorale)	≥ 95 %	≥ 95 %

a. La sensibilité analytique est définie comme étant le pourcentage de détection au niveau de variant énoncé
 b. La spécificité analytique est définie comme étant la capacité de détecter un négatif connu

Analyse précise et accélérée

DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software utilise des algorithmes bio-informatiques accélérés entièrement intégrés pour assurer une performance optimale du test. Le logiciel effectue un alignement de la séquence, une correction des erreurs en combinant la séquence, puis un appel des variants en fonction des données brutes. Les lectures dupliquées et les erreurs de séquençage sont supprimées sans perdre le signal pour les variants basse fréquence tout en fournissant des résultats d'appels de variants de sensibilité élevée. Dans le but d'améliorer les performances et l'efficacité, tous les composants du pipeline sont intégrés à la plateforme DRAGEN.

Contrairement aux résultats qualitatifs tirés des tests basés sur la PCR, DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software fournit un score d'IMS quantitatif dérivé de plus de 2 400 sites de marqueurs d'IMS homopolymères.

Pour l'analyse de la CMT, le logiciel DRAGEN optimise la sensibilité en mesurant à la fois les SNV synonymes et non synonymes et les indels. Après l'appel de variants et la correction d'erreurs, la précision de la mesure de la CMT est davantage améliorée par la filtration des variants germinaux, des variants de fiabilité faible et des variants associés à l'hématopoïèse clonale à potentiel indéterminé.

DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software fonctionne sur un serveur local DRAGEN v3 ou v4 d'Illumina ou dans le nuage via Illumina Connected Analytics. Les améliorations apportées au matériel et au logiciel de la plateforme DRAGEN ultrarapide permettent de diminuer le temps d'analyse des données de ~ 85 % (ou de neuf jours à ~ 20 heures) (figure 3). Grâce à la compatibilité avec DRAGEN v3.10, les utilisateurs peuvent exécuter les tests TruSight Oncology ctDNA et TruSight Oncology 500 sur le même serveur local DRAGEN, offrant ainsi une flexibilité accrue. Connected Analytics offre une plateforme infonuagique de génomique sécurisée et rationalisée pour accroître l'analyse secondaire sans avoir besoin d'acquérir et d'entretenir une infrastructure locale supplémentaire⁵. Pour réduire davantage les points de contact manuels, Connected Analytics comprend des capacités de diffusion de données et de lancement automatique.

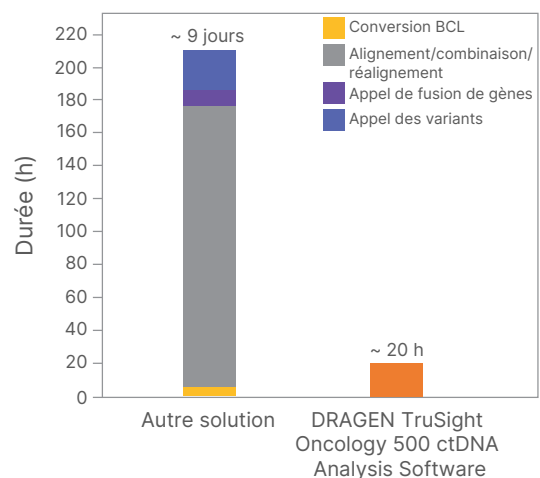



Figure 3 : Le serveur DRAGEN sur site v4 réduit la durée d'analyse des données – TruSight Oncology 500 ctDNA DRAGEN Analysis Software fusionne plusieurs étapes d'analyse des données en un seul processus nécessitant ~ 20 h, soit une réduction d'environ 85 % par rapport à une autre solution. Les durées d'analyse comparent le pipeline DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA v2.1 sur un DRAGEN Server v4 pour 24 échantillons à l'aide d'une Flow Cell S4 à une autre solution utilisant un pipeline non parallélisé à un seul nœud (mémoire de 128 Go, 24 cœurs) pour 24 échantillons à l'aide d'une Flow Cell S4.

 Pour en savoir plus, consultez la note technique concernant la sécurité, la confidentialité et la conformité avec Illumina Connected Analytics.

Les données sur les variants et la génération de rapports finaux sont disponibles grâce à l'intégration avec Illumina Connected Insights et d'autres fournisseurs commerciaux, y compris Pierian Clinical Genomics Workspace. Les fichiers d'appel de variants, produits localement ou via le nuage avec Illumina Connected Analytics, peuvent être téléchargés dans l'outil d'analyse tertiaire préféré. À partir de milliers de variants potentiels, les variants biologiquement pertinents peuvent être filtrés et classés par ordre de priorité dans un rapport final personnalisable. Le flux de travail complet, de l'ADNa à un rapport consolidé des variants, prend seulement cinq jours (figure 2).

Une validation étendue permet d'obtenir des résultats précis et hautement reproductibles

Pour démontrer les résultats de grande qualité atteints avec TruSight Oncology 500 ctDNA, Illumina a effectué différentes études portant sur l'évaluation de la capacité à appeler les SNV, les VNC, les fusions de gènes, la CMT et l'IMS (figures 4 et 5, tableaux 5 et 6).

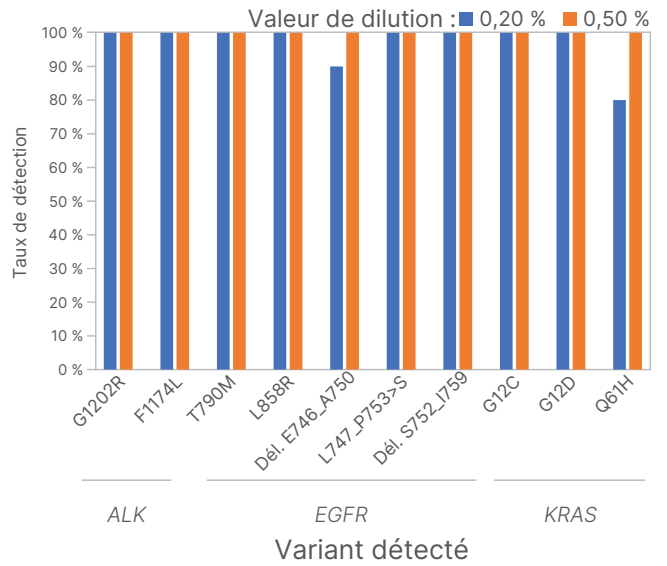


Figure 4 : Détection des petits variants à faible FAV – Des échantillons comportant une FAV connue pour chaque variant ont été dilués à des valeurs allant de 0,10 à 1,00 % de la FAV. Cinq réplicats de chaque échantillon ont été analysés avec TruSight Oncology 500 ctDNA en utilisant 30 ng d'ADN de contrôle de référence commercial.

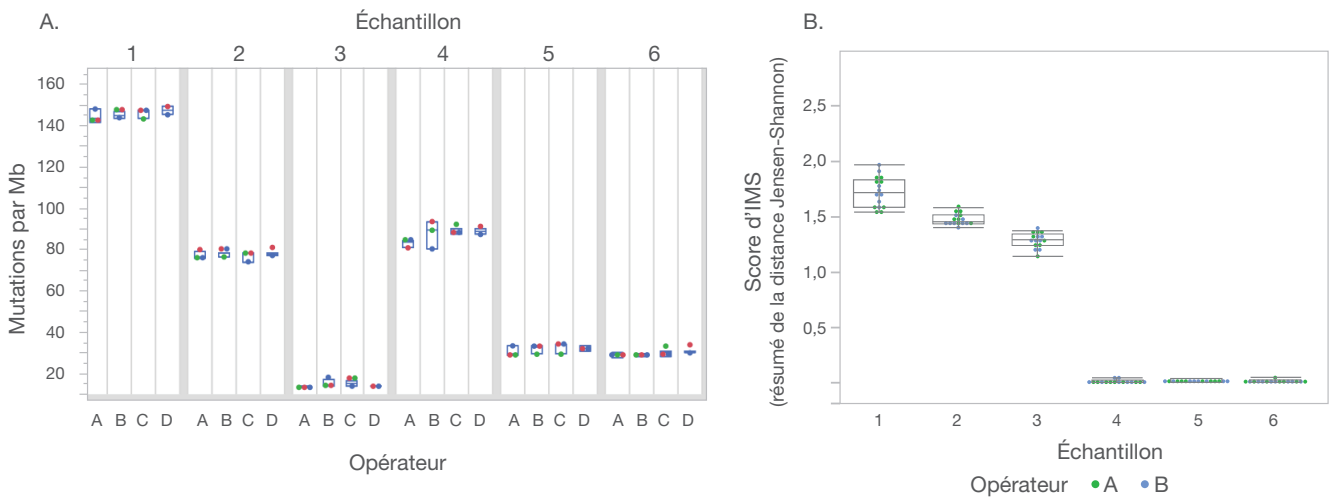


Figure 5 : Mesure de la CMT et de l'IMS reproductible – (A) La CMT a été évaluée dans six échantillons (1 à 6) plasmatiques différents entre quatre opérateurs (A, B, C, D) en trois exemplaires (vert, bleu, points rouges). (B) L'IMS a été évaluée dans trois lignées cellulaires nucléosomiques préparées avec un statut IMS-élevée connu (échantillons 1 à 3) et trois échantillons d'ADNa provenant de tumeurs IMS-élevée à faible prévalence (échantillons 4 à 6) entre deux opérateurs (A-vert, B-bleu).

Tableau 5 : Détection sensible des VNC

Gène	Facteur de modification attendu	Moyenne observée	Écart-type	Taux de détection
Amplifications				
<i>BRCA2</i>	1,8	1,4	0,01	100 %
<i>CCND3</i>	1,5	1,3	0,01	100 %
<i>FGF14</i>	1,3	1,5	0,01	100 %
<i>FGF3</i>	1,6	1,4	0,01	100 %
<i>FGF4</i>	1,7	1,4	0,01	100 %
<i>FGFR2</i>	1,6	1,4	0,01	100 %
<i>MET</i>	1,5	1,3	0,01	100 %
<i>MYC</i>	1,9	1,7	0,02	100 %
Suppressions				
<i>BRCA1</i>	0,7	0,7	0	100 %
<i>BRCA2</i>	0,6	0,6	0,01	100 %

Les échantillons comportant des modifications de facteur connues pour les amplifications et suppressions des gènes ont été évalués à l'aide de TruSight Oncology 500 ctDNA avec 30 ng d'apport d'ADNa. Cinq réplicats de chaque échantillon ont été analysés.

Amélioration des attributs du produit

Illumina offre de hauts niveaux de service et d'assistance pour garantir la réussite opérationnelle des laboratoires. Pour une plus grande efficacité, TruSight Oncology 500 ctDNA comprend :

- **Notification de modification avancée** : Illumina informe les laboratoires six mois avant que des changements significatifs ne soient apportés à un produit de la gamme TruSight Oncology 500.
- **Certificat d'analyse** : chaque produit TruSight Oncology 500 est délivré avec un certificat d'analyse (CdA) par le service d'assurance qualité d'Illumina qui vérifie que le produit a satisfait aux spécifications et à la qualité de libération prédéterminées du produit.

Tableau 6 : Détection des fusions de gènes à faible FAV

Fusion de gènes	FAV attendue	FAV observée	Écart-type	Taux de détection
<i>FGFR2-COL14A1</i>	4,1 %	4,1 %	0,5 %	100 %
<i>NPM1-ALK</i>	3,4 %	0,6 %	0,1 %	100 %
<i>FGFR3-BAIAP2L1</i>	3,4 %	0,8 %	0,2 %	100 %
<i>NPM1-ALK</i>	2,4 %	0,6 %	0,1 %	100 %
<i>EML4-ALK</i>	1,7 %	0,5 %	0,1 %	100 %
<i>CCDC6-RET</i>	1,0 %	0,7 %	0,1 %	100 %
<i>FGFR2-COL14A1</i>	0,9 %	0,4 %	0,2 %	100 %
<i>EML4-ALK</i>	0,7 %	0,2 %	0,1 %	100 %
<i>EML4-ALK</i>	0,5 %	0,5 %	0,3 %	100 %
<i>NPM1-ALK</i>	0,5 %	0,2 %	0,0 %	100 %
<i>NCOA4-RET</i>	0,5 %	0,2 %	0,0 %	100 %
<i>CCDC6-RET</i>	0,2 %	0,1 %	0,1 %	100 %

Des échantillons comportant des fréquences d'allèles avec fusion de gènes connues allant de ~ 0,5 à 4 % ont été évalués. Cinq réplicats de chaque échantillon ont été analysés avec TruSight Oncology 500 ctDNA en utilisant 30 ng d'apport d'ADNa. La directionnalité de la fusion des gènes est rapportée en fonction de l'expression connue. Consultez le [Guide de l'utilisateur de l'application locale TruSight Oncology 500 ctDNA](#) pour obtenir de plus amples renseignements sur la directionnalité de la fusion basée sur l'ADN.

- **Durée de conservation prolongée** : la durée de conservation minimale garantie pour les réactifs TruSight Oncology 500 est prolongée à six mois, ce qui réduit le risque d'expiration du produit et permet aux laboratoires d'utiliser les réactifs en fonction des besoins actuels des tests.

Résumé

TruSight Oncology 500 ctDNA est un test de recherche multiplex basé sur le SNG qui analyse simultanément des centaines de biomarqueurs liés au cancer à partir de plasma. Le contenu du test est conforme aux recommandations et aux recherches des essais cliniques actuelles. Ce test unique et complet est capable de détecter de nombreux types de variants provenant de 523 gènes impliqués dans différents types de tumeurs sans recourir aux multiples échantillons requis dans le cadre de tests itératifs. TruSight Oncology 500 ctDNA fournit également une évaluation immuno-oncologique et des biomarqueurs pantumoraux (CMT, IMS, *NTRK*, *BRAF* et *RET*). Tirant profit d'un contenu génomique étendu, d'une technologie de séquençage de pointe et d'un logiciel amélioré, TruSight Oncology 500 ctDNA propose une solution intégrée pour accélérer les projets de recherche clinique avec une complexité d'analyse et opérationnelle minimale.

En savoir plus

[TruSight Oncology 500 ctDNA](#)

[NovaSeq 6000 System](#)

[Analyse secondaire DRAGEN](#)

[Illumina Connected Analytics](#)

[Illumina Connected Insights](#)

Renseignements relatifs à la commande

Produit	N° de référence
TruSight Oncology 500 ctDNA Kit (48 échantillons, 16 index)	20039252
TruSight Oncology 500 ctDNA Kit et rapport d'interprétation Pierian (48 échantillons, 16 index)	20043410
Trousses de réactifs de séquençage	
NovaSeq 6000 S2 Reagent Kit v1.5 (300 cycles)	20028314
NovaSeq 6000 S4 Reagent Kit v1.5 (300 cycles)	20028312
NovaSeq Xp 4-Lane Kit v1.5	20043131
Génération de rapports sur site sur les variants	
Illumina DRAGEN Server v4	20051343
Illumina DRAGEN Server Advance Exchange Plan	20032797
Installation du serveur DRAGEN d'Illumina	20031995
Appel des variants basé sur le nuage	
Connected Analytics Basic Annual Subscription	20044874
Connected Analytics Professional Annual Subscription	20044876
Connected Analytics Enterprise Annual Subscription	20038994
Connected Analytics Enterprise Compliance Add-on (applicable uniquement à la version Basic)	20066830
Connected Analytics Training and Onboarding	20049422
Stockage des données Connected Analytics : Illumina Analytics, 1 crédit	20042038
Stockage des données Connected Analytics : Illumina Analytics Starter Pack, 1 000 crédits	20042039
Stockage des données Connected Analytics : Illumina Analytics, 5 000 crédits	20042040
Stockage des données Connected Analytics : Illumina Analytics, 50 000 crédits	20042041
Stockage des données Connected Analytics : Illumina Analytics, 100 000 crédits	20042042

Renseignements relatifs à la commande (suite)

Produit	N° de référence
Données et génération de rapports	
Illumina Connected Insights – Annual Subscription	20090137
Illumina Connected Insights – Oncology Genome Equivalent Sample-VCF	20090138
Illumina Connected Insights – Training and Onboarding	20092376
Informatics Professional Services	20071787

Références

1. Illumina. Enhanced sequencing capabilities with the NovaSeq 6000 v1.5 Reagent Kit. [illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/novaseq-v1-5-reagents-tech-note-770-2020-013/novaseq-v1.5-reagents-tech-note-770-2020-013.pdf](https://www.illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/novaseq-v1-5-reagents-tech-note-770-2020-013/novaseq-v1.5-reagents-tech-note-770-2020-013.pdf). Publié en 2020. Consulté le 30 mars 2022.
2. Parikh AR, Leshchiner I, Elagina L, et al. [Liquid versus tissue biopsy for detecting acquired resistance and tumor heterogeneity in gastrointestinal cancers](https://doi.org/10.1038/s41591-019-0561-9). *Nat Med*. 2019;25(9):1415-1421. doi:10.1038/s41591-019-0561-9
3. Leighl NB, Page RD, Raymond VM, et al. [Clinical Utility of Comprehensive Cell-free DNA Analysis to Identify Genomic Biomarkers in Patients with Newly Diagnosed Metastatic Non-small Cell Lung Cancer](https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-19-0624). *Clin Cancer Res*. 2019;25(15):4691-4700. doi:10.1158/1078-0432.CCR-19-0624
4. Illumina. TruSight Oncology UMI Reagents. [illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/datasheets/trusight-oncology-umi-reagents-datasheet-1000000050425.pdf](https://www.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/datasheets/trusight-oncology-umi-reagents-datasheet-1000000050425.pdf). Publié en 2017. Consulté le 15 mars 2022.
5. Illumina. Illumina Connected Analytics Security Brief. [illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/ica-security-brief-m-gl-00683/ica-security-brief-m-gl-00683.pdf](https://www.illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/ica-security-brief-m-gl-00683/ica-security-brief-m-gl-00683.pdf). Publié en 2022. Consulté le 16 mars 2022.



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

© 2023 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-00843 FRA v5.0