

# Illumina DNA Prep with Enrichment Dx permet une détection très précise des variants

Performance démontrée avec  
des échantillons FFIP et de  
sang total à l'aide de panels  
de sondes d'enrichissement  
de diverses tailles



## Introduction

ILLUMINA DNA Prep with Enrichment Dx est une solution de séquençage de nouvelle génération (SNG) pour la préparation de bibliothèques et l'enrichissement qui est conforme au règlement de l'Union européenne (UE) 2017/746 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* (IVDR, *In Vitro* Diagnostics Regulation) et réglementée par la Food and Drug Administration (FDA). Elle prend en charge un large éventail de quantités d'entrées d'ADN génomique (ADNg) extrait de sang total ou de tissus fixés au formol et inclus en paraffine (FFIP). Associée aux instruments MiSeq<sup>MC</sup>Dx, NextSeq<sup>MC</sup> 550Dx ou NovaSeq<sup>MC</sup> 6000Dx, la solution ILLUMINA DNA Prep with Enrichment Dx permet aux laboratoires cliniques d'ajouter des panels d'enrichissement de séquençage ciblé à leur menu d'applications de diagnostic.

ILLUMINA DNA Prep with Enrichment Dx prend en charge les panels fixes et personnalisés de diverses tailles, y compris les panels d'exomes. La trousse est compatible avec les panels d'oligonucléotides d'ADN d'enrichissement d'ILLUMINA et ceux de tiers pour davantage de possibilités.

Cette note technique démontre la performance exceptionnelle d'ILLUMINA DNA Prep with Enrichment Dx dans la production de données de séquençage de haute qualité et la détection sensible des variants germinaux et somatiques avec contrôle de référence et des échantillons de sang total et FFIP de sujets réels (figure 1). Divers panels de sondes d'enrichissement

d'ILLUMINA et de tiers qui répondent aux spécifications de validation avec ILLUMINA DNA Prep with Enrichment Dx (tableau 1) ont été utilisés pour évaluer la validation de principe.

Tableau 1 : Exigences du panel de sondes ILLUMINA DNA Prep With Enrichment Dx<sup>a</sup>

Paramètre	Spécification
Type de sonde	ADN à brin unique ou double brin
Longueur de la sonde	80 pb ou 120 pb
Taille du panel	500 à 675 000 sondes
Entrées de sondes totales <sup>b</sup>	≥ 3 pmol

a. Les panels en dehors de ces spécifications n'ont pas été validés et leur utilisation est jugée non conforme.  
b. Pour les enrichissements simples ou multipliés par 12.

## Méthodes

### Échantillons et extraction d'ADN

Les échantillons pour l'évaluation comprenaient le matériel de référence NA12878 provenant du Coriell Institute, l'ADN de référence altéré par le formol Horizon HD799 et l'ADN extrait d'échantillons de sang total et de tissus FFIP de sujets réels. Toute méthode d'extraction validée peut être utilisée. Consultez la [fiche technique ILLUMINA DNA Prep with Enrichment Dx](#) pour en savoir plus sur la préparation des échantillons.

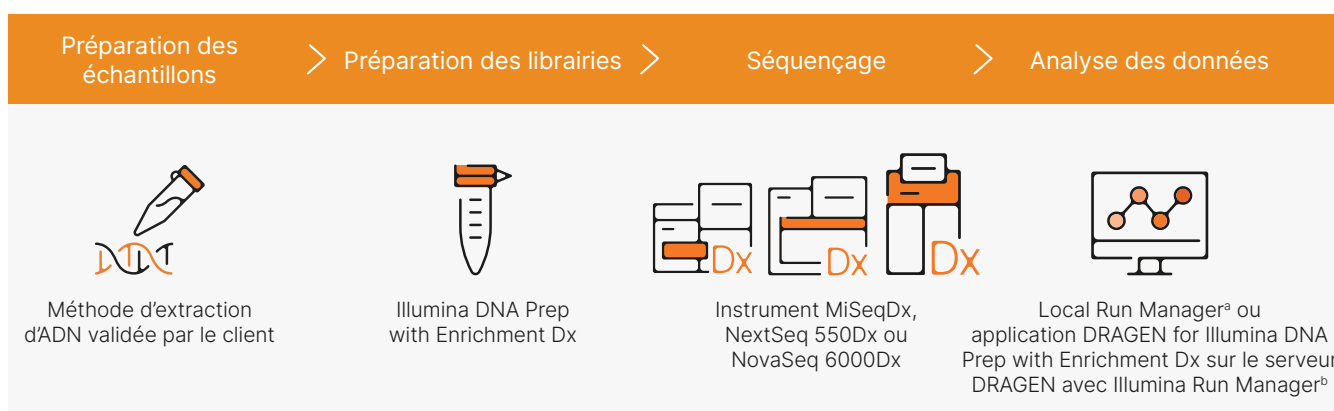


Figure 1 : Flux de travail ILLUMINA DNA Prep with Enrichment Dx : l'ADN a été extrait selon les protocoles standard. Les bibliothèques ont été préparées à l'aide d'ILLUMINA DNA Prep with Enrichment Dx et de plusieurs panels de sondes de capture hybride, suivi du séquençage et de l'analyse des données.

a. Disponible sur l'instrument MiSeq<sup>MC</sup>Dx.

b. Disponible sur les instruments NextSeq<sup>MC</sup> 550Dx et NovaSeq<sup>MC</sup> 6000Dx.

Tableau 2 : Spécifications du panel d'enrichissement utilisées pour l'évaluation

Caractéristique du panel	Panel d'exomes I	Panel d'exomes T	Large panel I	Panel de taille moyenne I	Petit panel I
Taille du panel	45,2 Mb	33 Mb	12 Mb	1,94 Mb	255 kb
Taille de la sonde	80 pb	120 pb	80 pb	80 pb	80 pb

Taille du panel : longueur totale de la séquence dans les régions cibles; taille de la sonde : longueur de la sonde d'extrait d'enrichissement.

## Préparation et enrichissement de bibliothèques

Les bibliothèques ont été préparées pour tous les échantillons à l'aide d'Illumina DNA Prep with Enrichment Dx. 50 ng ou 1 000 ng d'ADN extrait ou le volume total a été entré dans la préparation de bibliothèques. L'hybridation a été réalisée avec cinq panels d'enrichissement différents (tableau 2). Les bibliothèques préparées à partir d'échantillons FFIP et de sang total ont été hybridées en tant que réactions d'enrichissement à 1 et 12 niveaux, respectivement.

## Séquençage

Les bibliothèques préparées ont été séquencées sur l'instrument MiSeqDx ou NextSeq 550Dx à l'aide de la trousse MiSeqDx Reagent Kit v3 ou NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 cycles), respectivement, à une longueur de lecture de 2 ×151 pb.

## Analyse des données

Les fichiers FASTQ ont été générés à partir des définitions de bases avec le module GenerateFASTQ Dx dans Local Run Manager. L'analyse des fichiers FASTQ a été effectuée avec des scripts personnalisés. Une analyse et une visualisation supplémentaires des données ont été effectuées à l'aide du logiciel statistique Microsoft Excel ou JMP. L'application DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx est une [option pour l'analyse secondaire](#).

Tableau 3 : Performances du test avec l'ADN de contrôle dans les panels d'enrichissement

Panel	Quantité d'entrée d'ADN (ng)	Enrichissement par lectures élargies uniques	Uniformité de la couverture	Longueur moyenne des fragments	Rappel des SNV <sup>a</sup>	Précision des SNV <sup>b</sup>	Rappel des indels <sup>a</sup>	Précision des indels <sup>b</sup>
Panel d'exomes I	50	78,65	95,37 %	175	96,11 %	98,16 %	89,84 %	84,19 %
	1 000	80,81	96,35 %	197	96,47 %	99,60 %	91,10 %	94,05 %
Panel d'exomes T	50	93,29	97,50 %	178	96,26 %	99,34 %	92,18 %	90,27 %
	1 000	92,69	97,78 %	198	96,40 %	99,63 %	91,30 %	96,01 %
Large panel I	50	82,43	95,78 %	188	97,91 %	98,99 %	89,68 %	83,89 %
	1 000	83,91	96,92 %	213	98,13 %	99,82 %	90,70 %	94,66 %
Petit panel I	50	78,34	98,10 %	180	98,54 %	99,88 %	S. O.	S. O.
	1 000	76,86	98,26 %	202	98,54 %	100 %	S. O.	S. O.

a. Rappel = vrais positifs/(vrais positifs + faux négatifs).

b. Précision = vrais positifs/(vrais positifs + faux positifs).

S. O. : sans objet

## Résultats

Pour évaluer Illumina DNA Prep with Enrichment Dx, les librairies préparées avec différents panels de sondes ont été séquencées et analysées. La performance a été mesurée par divers indicateurs de séquençage, notamment l'uniformité de la couverture, l'enrichissement par lectures élargies et la longueur médiane des fragments. La capacité à appeler avec précision les variants mononucléotidiques (SNV) et les insertions/suppressions (indels) a été déterminée par des indicateurs de rappel et de précision. Pour commencer, 50 ng et 1 000 ng d'ADN de référence NA12878 ont été utilisés pour préparer des librairies avec quatre panels. Des données de séquençage de haute qualité ont été obtenues, permettant un appel précis des variants germinaux dans tous les panels inclus pour l'évaluation (tableau 3).

Ces résultats démontrent la capacité de la tagmentation sur billes utilisée par Illumina DNA Prep with Enrichment Dx à normaliser les échantillons avec des entrées variables ayant des effets minimes sur la qualité des données, ce qui permet d'éliminer les étapes de normalisation du protocole pour un gain de temps considérable.

Un enrichissement par lectures élargies et une uniformité de couverture de haut niveau ont été observés lors de l'utilisation de l'ADN extrait d'échantillons de sang total, de la solution Illumina DNA Prep with Enrichment Dx, du panel d'exomes I et du petit panel I (tableau 4). De même, une uniformité élevée de la couverture a été observée avec les librairies FFIP enrichies avec le panel de taille moyenne ainsi qu'avec les librairies HD799 enrichies avec le même panel, ce qui permet un appel très précis des variants somatiques (tableau 5).

Tableau 4 : Performance avec entrée de sang total

Panel	Enrichissement par lectures élargies uniques	Uniformité de la couverture	Longueur moyenne des fragments
Panel d'exomes I	81,14	95,68 %	203
Petit panel I	77,64	98,13 %	193

Tableau 5 : Performance avec le matériel de référence altéré par le formol et l'entrée de tissus FFIP de sujets réels

Panel	Source d'entrée	Quantité d'entrée (ng)	Uniformité de la couverture	Rappel des SNV
Panel de taille moyenne I	FFIP	50	99,24 %	S. O.
		1 000	99,14 %	S. O.
	HD799	50	96,69 %	100 %

## Résumé

Illumina DNA Prep with Enrichment Dx fournit une solution réglementée par la FDA et conforme au règlement de l'UE 2017/746 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* (IVDR, *In Vitro* Diagnostic Regulation) pour les méthodes d'enrichissement de séquençage ciblé, y compris les panels fixes, les panels personnalisés et les panels d'exomes. Cette note technique démontre la performance optimale du test pour le séquençage d'enrichissement ciblé et l'appel de variants germinaux et somatiques.

## En savoir plus

[Illumina DNA Prep with Enrichment Dx](#)

## Déclarations relatives à l'utilisation prévue

Illumina DNA Prep with Enrichment Dx (CE-IVD)

Illumina DNA Prep with Enrichment Dx Kit est un ensemble de réactifs et de consommables utilisés pour préparer les librairies d'échantillons à partir d'ADN génomique dérivé de cellules et de tissus humains dans le cadre de test de diagnostic *in vitro*. Des panels de sondes fournis par l'utilisateur sont nécessaires pour la préparation de librairies qui ciblent des régions génomiques d'intérêt spécifiques. Les librairies d'échantillons ainsi générées sont destinées aux systèmes de séquençage d'Illumina. Illumina DNA Prep with Enrichment Dx comprend un logiciel pour l'analyse, la surveillance et la configuration des analyses de séquençage.

### ILLUMINA DNA Prep with Enrichment Dx (États-Unis)

ILLUMINA DNA Prep with Enrichment Dx est un ensemble de réactifs et de consommables utilisés dans la préparation de bibliothèques d'échantillons à base d'ADN extrait de sang total périphérique et de tissus fixés au formol et inclus en paraffine (FFIP). Des panels de sondes fournis par l'utilisateur sont nécessaires pour la préparation de bibliothèques qui ciblent des régions génomiques d'intérêt spécifiques. Les bibliothèques d'échantillons ainsi générées sont destinées aux systèmes de séquençage d'ILLUMINA.

### Instrument MiSeqDx

L'instrument MiSeqDx est destiné au séquençage ciblé de bibliothèques d'ADN provenant d'ADN génomique humain extrait de sang total périphérique ou de tissus fixés au formol et inclus en paraffine (FFIP), à utiliser avec les tests de diagnostic *in vitro* (DIV) réalisés sur l'instrument. L'instrument MiSeqDx n'est pas destiné au séquençage de génome entier ou *de novo*. L'instrument MiSeqDx doit être utilisé avec les réactifs de diagnostic *in vitro* enregistrés, répertoriés, homologués et approuvés, ainsi qu'avec le logiciel d'analyse.

### Instrument NextSeq 550Dx (États-Unis)

L'instrument NextSeq 550Dx est destiné au séquençage ciblé de bibliothèques d'ADN provenant d'ADN génomique humain extrait de sang total périphérique ou de tissus fixés au formol et inclus en paraffine (FFIP), à utiliser avec les tests de diagnostic *in vitro* (DIV) réalisés sur l'instrument. L'instrument NextSeq 550Dx n'est pas destiné au séquençage de génome entier ou *de novo*. L'instrument NextSeq 550Dx doit être utilisé avec les réactifs de DIV enregistrés, répertoriés, homologués et approuvés ainsi qu'avec le logiciel d'analyse.

### Instrument NextSeq 550Dx (Union européenne/autre)

L'instrument NextSeq 550Dx est destiné au séquençage de bibliothèques d'ADN lorsqu'il est utilisé dans le cadre de tests de diagnostic *in vitro* (DIV) réalisés sur l'instrument. L'instrument NextSeq 550Dx doit être utilisé avec les réactifs de DIV enregistrés, homologués ou approuvés ainsi qu'avec le logiciel d'analyse.

### Instrument NovaSeq 6000Dx (États-Unis)

L'instrument NovaSeq 6000Dx est destiné au séquençage ciblé de bibliothèques d'ADN provenant d'ADN génomique humain extrait de sang total périphérique ou de tissus fixés au formol et inclus en paraffine (FFIP) à utiliser avec les tests de diagnostic *in vitro* (DIV). L'instrument NovaSeq 6000Dx n'est pas destiné au séquençage de génome entier ou *de novo*. L'instrument NovaSeq 6000Dx est destiné à être utilisé avec les réactifs de DIV enregistrés, homologués ou approuvés ainsi qu'avec le logiciel d'analyse.

### Instrument NovaSeq 6000Dx (Union européenne/autre)

L'instrument NovaSeq 6000Dx est destiné au séquençage de bibliothèques d'ADN lorsqu'il est utilisé dans le cadre de tests de diagnostic *in vitro* (DIV). L'instrument NovaSeq 6000Dx est destiné à être utilisé avec les réactifs de DIV enregistrés, homologués ou approuvés ainsi qu'avec le logiciel d'analyse.



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](http://www.illumina.com/company/legal.html).  
M-GL-00744 FRA v4.0