

TruSight™ Oncology 500 ctDNA v2

Obtenga CGP sensibles y rápidos a partir de muestras de biopsia líquida

- Detecte biomarcadores presentes con una VAF de hasta el 0,2 % a partir de 20 ng de ADNtc (posible con 5-30 ng).
- Obtenga resultados completos en <4 días con opciones manuales o automatizadas.
- Analice >500 genes y firmas genómicas de inmunooncología (IO) (MSI, TMB) en un ensayo.
- Aproveche la economía transformadora y los tamaños de lote de tan solo cuatro muestras con NovaSeq™ X Series.



El valor que aportan el ADNtc y la biopsia líquida a la CGP

Comprender la base genómica del cáncer puede ayudar a identificar las alteraciones que impulsan la enfermedad y permitir avances en la medicina de precisión. Un método para abordar estos estudios oncológicos es la creación de perfiles genómicos completos (CGP, comprehensive genomic profiling). La CGP es una aplicación de la medicina de precisión que aprovecha la secuenciación de nueva generación (NGS, next-generation sequencing) para evaluar una gran variedad de biomarcadores en un único ensayo, utilizando menos muestra y obteniendo los resultados más rápido que con las estrategias de análisis múltiple iterativas.^{1,2} Además, las pruebas de CGP pueden identificar más variantes con importancia clínica que las estrategias de análisis convencionales, como las pruebas de un solo gen y los paneles de NGS de puntos de interés.³⁻⁶ Esta capacidad para detectar más variantes cobra importancia a medida que se descubre un mayor número de biomarcadores, incluidas las firmas genómicas de inmunooncología (IO), como la carga mutacional del tumor (TMB, tumor mutational burden) que requieren grandes paneles de NGS (>1 Mb) para una identificación precisa.^{7,8}

La estrategia convencional para la CGP implica el uso de muestras de tejido de tumores sólidos, incluidas muestras fijadas en formol y embebidas en parafina (FFPE, formalin-fixed paraffin-embedded). De forma ocasional, puede que no haya suficiente muestra de tejido (esto puede ocurrir en hasta el 25 % de los casos⁹), el tumor puede ser inaccesible o los resultados de la biopsia de tejido pueden retrasarse demasiado. En estos casos, la realización de la CGP con ADN tumoral circulante (ADNtc) a partir de una biopsia líquida de sangre puede proporcionar información sobre el panorama genómico del tumor. El ADNtc se ha detectado en todas las etapas de progresión del cáncer y en varios tipos de tumores sólidos,¹⁰ incluidos los cánceres de pulmón, mama, colorrectal y ovárico.

El uso de ADNtc para la CGP tiene varias ventajas:

- Acceder a la muestra fácilmente mediante un procedimiento de extracción de sangre mínimamente invasivo.¹¹
- Capturar clones de múltiples tumores o incluso del mismo tumor,¹² superando el sesgo de muestreo inherente presente con la biopsia tumoral sólida y ampliando la capacidad para identificar más alteraciones.¹²⁻¹⁵
- Obtener información temporal y espacial sobre la heterogeneidad intratumoral e intertumoral.¹¹
- Repetir el análisis para evaluar la selección clonal.

La biopsia líquida proporciona una estrategia no invasiva para obtener ADN extracelular circulante (ADNec), que incluye ADNtc, del plasma sanguíneo para la creación de perfiles tumorales (figura 1). Para ciertas enfermedades, como el carcinoma pulmonar no microcítico (CPNM), añadir el análisis de CGP de la biopsia líquida al análisis de tejido puede aumentar la identificación de mutaciones clínicamente relevantes en un 15-48 %.^{13,14,16} Además, estudios en el cáncer de pulmón no microcítico han revelado que los análisis de ADNec son muy concordantes con los análisis basados en tejidos.¹⁴ En la actualidad, la biopsia líquida se incluye cada vez más en las directrices profesionales (más de 12 enfermedades) como método para obtener muestras para la creación de perfiles moleculares.¹⁷⁻¹⁹

A fin de aprovechar las ventajas de la biopsia líquida, es fundamental usar un ensayo analítico que sea muy sensible y específico, y que permita detectar mutaciones somáticas presentes con baja frecuencia en el ADNtc. El ensayo TruSight Oncology 500 ctDNA original²⁰ superó este desafío, aprovechando la capacidad de la probada tecnología de NGS de Illumina y logrando la alta sensibilidad analítica necesaria para permitir la CGP. Partiendo de este éxito, TruSight Oncology 500 ctDNA v2 (tabla 1, tabla 2) ofrece mejoras químicas y del flujo de trabajo se traducen en una mayor sensibilidad y un tiempo de respuesta más rápido (tabla 3).



Figura 1: La biopsia líquida permite un enfoque no invasivo para la CGP. El ADNtc, que se encuentra en el ADN extracelular circulante en el plasma, se puede obtener mediante una simple extracción de sangre y se puede analizar con TruSight Oncology 500 ctDNA v2 para detectar la presencia de biomarcadores relevantes para el cáncer contenidos en las guías clave.

Tabla 1: Información básica de TruSight Oncology ctDNA v2

Parámetro	Especificación
Sistema	NovaSeq X Series NovaSeq 6000 System NovaSeq 6000Dx Instrument (modo RUO) ^a
Productividad de muestras	4-48 muestras por experimento
Tamaños de los kits de preparación de librerías	24 muestras (manual) 48 muestras (automatizado)
Muestras por celda de flujo	4 muestras por celda de flujo 1,5B 8 muestras por celda de flujo S2 24 muestras por celda de flujo de 10 000 M 24 muestras por celda de flujo S4
Capacidad de automatización	Métodos Illumina Qualified disponibles para Hamilton Microlab STAR
Tamaño de panel	1,94 Mb de ADN
Contenido del panel	523 genes para variantes pequeñas 59 genes para CNV 23 genes para reordenaciones de genes MSI (>2300 locus) TMB (>1 Mb)
Tipo de muestra	ADNec obtenido de la sangre
Cantidad necesaria de entrada de ADN	20 ng de ADNec (posible con 5-30 ng) ^b
Duración total del ensayo	Desde la preparación de librerías hasta la generación del informe de variantes: • 3 días en NovaSeq X Series • 4 días en NovaSeq 6000 System
Tiempo de participación activa	8-24 muestras (manual): aprox. 2,5 h 8-24 muestras (automatizado): aprox. 1,5 h 48 muestras (manual): aprox. 4,5 h 48 muestras (automatizado): aprox. 1,5 h
Tiempo de preparación de librerías ^c	8-24 muestras (manual): aprox. 8,5 h 8-24 muestras (automatizado): aprox. 9,5 h 48 muestras (manual): aprox. 10 h 48 muestras (automatizado): aprox. 11 h
Duración del experimento de secuenciación	22-44 h (consulte la tabla 5)
Longitud de lectura del experimento de secuenciación	2 × 151 pb
Cobertura de secuenciación	35 000×
Tiempo de análisis de variantes	8 muestras: 9-12 h 24 muestras: 20-24 h 48 muestras: 40-48 h

a. Compatibilidad del servidor integrado con NovaSeq 6000Dx Instrument a partir del 2.º semestre de 2024.

b. Se recomienda la cuantificación con los sistemas Agilent TapeStation o Fragment Analyzer. Para obtener más información sobre las cantidades de aporte, lea la [nota técnica Uso de cantidades de aporte más bajas con TruSight Oncology ctDNA v2](#).

c. Incluye los pasos de preparación de librerías, enriquecimiento y normalización basada en bolas.

Tabla 2: Rendimiento de TruSight Oncology ctDNA v2^a

Parámetro	Especificación
Límite de detección (LoD)	VAF del 0,2 % para SNV VAF del 0,5 % para MNV e indels VAF del 0,5 % para reordenaciones de genes Múltiplo del cambio $\geq 1,3$ en el caso de las amplificaciones génicas Múltiplo de cambio $\leq 0,6$ en el caso de las deleciones génicas $\geq 0,3$ % de fracción tumoral para MSI
Sensibilidad del análisis (en el LoD)	≥ 90 % (en el LoD de VAF del 0,2 % para SNV) ≥ 95 % (en el LoD de VAF del 0,2 % para puntos de interés de SNV) ≥ 95 % (en el LoD de VAF del 0,5 % para todos los demás tipos de variantes)
Especificidad del análisis	$\geq 99,999$ %

a. Verificado en NovaSeq 6000 System y NovaSeq X Series.

Tabla 3: Avances con TruSight Oncology ctDNA v2

Ventaja	TruSight Oncology 500 ctDNA v2	TruSight Oncology 500 ctDNA (original)
Sensibilidad del ensayo mejorada	Pasos de reparación de extremos y adición de cola de A separados	Reparación de extremos y adición de cola de A combinadas
Flujo de trabajo más optimizado y mejor experiencia del usuario	Índices/UMI basados en placas	Índices/UMI basados en tubos
Flujo de trabajo más rápido en un solo día	Etapa única de hibridación/captura	Dos etapas de hibridación y captura
Mayor flexibilidad	192 índices	16 índices
Tamaños de lote más amplios	4-48 muestras ^a	8-48 muestras
Capacidad de automatización	Sí	No

a. Lotes de cuatro muestras disponibles en NovaSeq X Series.

UMI: identificador molecular único

Contenido exhaustivo

El contenido de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 se ha diseñado con la ayuda de autoridades reconocidas en la comunidad oncológica e incluye biomarcadores actuales y emergentes, con una cobertura exhaustiva de los genes implicados en las guías clave y en ensayos clínicos de varios tipos de tumores. El diseño de la sonda del panel captura reordenaciones de genes tanto conocidas como novedosas e incluye 523 genes para detectar variantes con probabilidad de desempeñar un papel en la carcinogénesis ahora y en el futuro. Los biomarcadores comprenden variantes de nucleótido único (SNV, single-nucleotide variants), variantes de nucleótidos múltiples (MNV, multiple-nucleotide variants), inserciones/delecciones (indels), variantes de número de copias (CNV, copy-number variants), reordenaciones de genes y firmas genómicas complejas de IO, como la inestabilidad de microsatélites en sangre (bMSI, blood-based microsatellite instability) y la TMB en sangre (bTMB, blood-based TMB) (tabla 4).


 Para obtener una lista completa de genes, visite la página del producto [TruSight Oncology 500 ctDNA v2](#).

Tabla 4: Ejemplos de tipos de variantes detectadas con TruSight Oncology 500 ctDNA v2

Tipo de variante	Ejemplo
SNV e indels	<i>EGFR, POLE, TMPRSS2, BRAF</i>
Reordenaciones de genes	<i>ALK, ROS1, NTRK1, NTRK2, RET</i>
CNV	<i>HER2</i>
MSI	Puntuación de MSI
TMB	Puntuación de TMB

Flujo de trabajo integrado y rápido

TruSight Oncology 500 ctDNA v2 forma parte de un flujo de trabajo de CGP integrado que abarca desde el aporte de muestras hasta la generación del informe final (figura 2). El uso de kits y métodos de preparación de librerías automatizados, herramientas de llamada de variantes y software de interpretación y generación de informes permite un flujo de trabajo fluido que se puede completar en menos de cuatro días, menos de la mitad del tiempo que otros ensayos de CGP con biopsia líquida (figura 3).

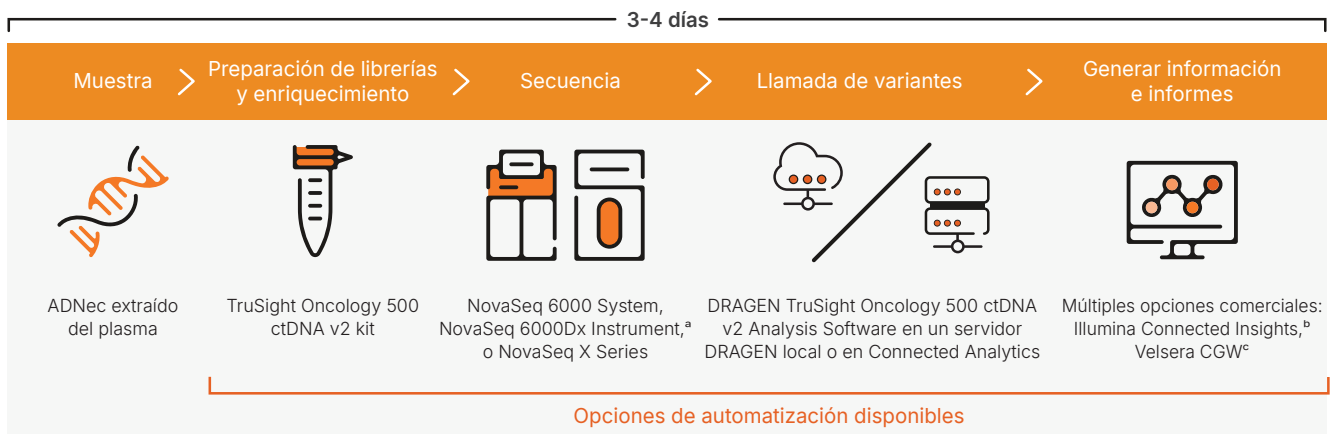


Figura 2: Flujo de trabajo de TruSight Oncology 500 ctDNA v2. El ensayo TruSight Oncology 500 ctDNA v2 se integra en los flujos de trabajo actuales del laboratorio, permitiendo pasar del ADNec al informe de variantes en cinco días. DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software se ejecuta localmente en DRAGEN Server o en la versión en la nube mediante Illumina Connected Analytics. a. NovaSeq 6000Dx Instrument en modo RUO. b. Disponible en algunos países. La línea de productos Illumina Connected Insights admite el análisis terciario definido por el usuario a través de llamadas API a fuentes de conocimiento de terceros. c. Hay otras opciones de terceros disponibles.

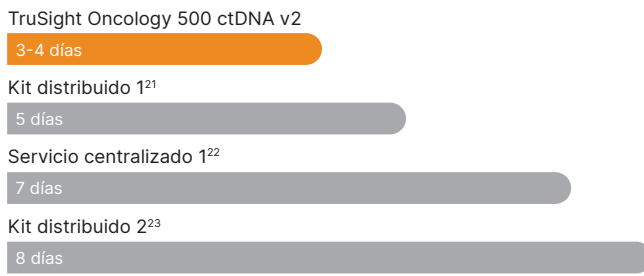




Figura 3: Tiempo hasta obtener los resultados más rápido con TruSight Oncology 500 ctDNA v2. Comparación del tiempo necesario para pasar de una muestra a otra para los ensayos de CGP de biopsia líquida que incluyen los biomarcadores de IO de bMSI y bTMB.

Preparación optimizada de librerías

Con el uso de la química de secuenciación por síntesis (SBS, sequencing by synthesis) de Illumina, de eficacia probada, TruSight Oncology 500 ctDNA v2 permite la creación de perfiles genómicos completos a partir de una entrada de tan solo 20 ng de ADNec, lo que lo convierte en una alternativa ideal para su uso cuando el tejido no está fácilmente disponible o como complemento al análisis de tejidos. El ADNtc representa una pequeña fracción del ADNec (normalmente menos del 5 % del ADNec total), por lo que son necesarios métodos potentes para separar la señal del ruido. A fin de permitir la identificación de variantes de frecuencia ultrabaja, la preparación de librerías aprovecha el enriquecimiento de objetivos con sondas biotiniladas y bolas magnéticas recubiertas de estreptavidina para enriquecer dianas seleccionadas de librerías basadas en ADN e identificadores moleculares únicos (UMI, unique molecular identifiers)²⁴ para reducir las tasas de error (figura 4). Los avances en la química del producto han reducido el número de hibridaciones de dos a una en TruSight Oncology 500 ctDNA v2, lo que permite un plazo de un día para la preparación de librerías y un tiempo hasta obtener los resultados más corto. También ha mejorado la sensibilidad analítica hasta un 0,2 % de VAF para las SNV. Este enfoque de hibridación y captura selectivas reduce la pérdida de muestras en presencia tanto de variaciones alélicas naturales como de artefactos de secuenciación.

 Obtenga información sobre [el uso de cantidades de aporte de tan solo 5 ng con TruSight Oncology ctDNA v2](#).

 Información sobre los [UMI](#).

Flujo de trabajo con capacidad de automatización

TruSight Oncology 500 ctDNA v2 ofrece opciones manuales y automatizadas para admitir la preparación de librerías flexible. Illumina se ha asociado con Hamilton, un fabricante líder en manipulación de líquidos, para producir un flujo de trabajo totalmente automatizado para los ensayos TruSight Oncology 500 ctDNA v2 en Hamilton Star. Los kits de preparación de librerías fácilmente automatizables garantizan que haya suficiente reactivo disponible para preparar 48 librerías y adaptarse al volumen muerto necesario para el robot, generando una cantidad mínima de residuos de reactivos. Los flujos de trabajo automatizados logran los mismos resultados de alta calidad que los producidos por protocolos manuales, al tiempo que reducen el tiempo de participación activa en un 40 %, liberando aproximadamente ocho horas para otras actividades de laboratorio. En general, la automatización permite a los laboratorios ahorrar en costes de mano de obra y mejorar la eficiencia.²⁶

Secuenciación potente

Las librerías de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 se secuencian en NovaSeq 6000 Sequencing System, NovaSeq 6000Dx Instrument (modo RUO)* o NovaSeq X Series. Este último ofrece un flujo de trabajo más rápido, lo que reduce el tiempo de secuenciación en aproximadamente un 40 % en comparación con NovaSeq 6000 System (tabla 5). Independientemente de la plataforma utilizada, la secuenciación se produce a alta profundidad (400 millones de lecturas por muestra a aprox. 35 000×) para mejorar la sensibilidad. Como resultado, se pueden detectar mutaciones a una frecuencia alélica de variantes (VAF, variant allele frequency) del 0,2 %, en el caso de las SNV, con una sensibilidad analítica de al menos el 90 % y una especificidad analítica de al menos el 95 % (tabla 6). Además, NovaSeq X Series ofrece una economía transformadora al reducir el coste de secuenciación por muestra.²⁷

* Secuenciación en NovaSeq 6000Dx Instrument disponible en el 2.º semestre de 2024.

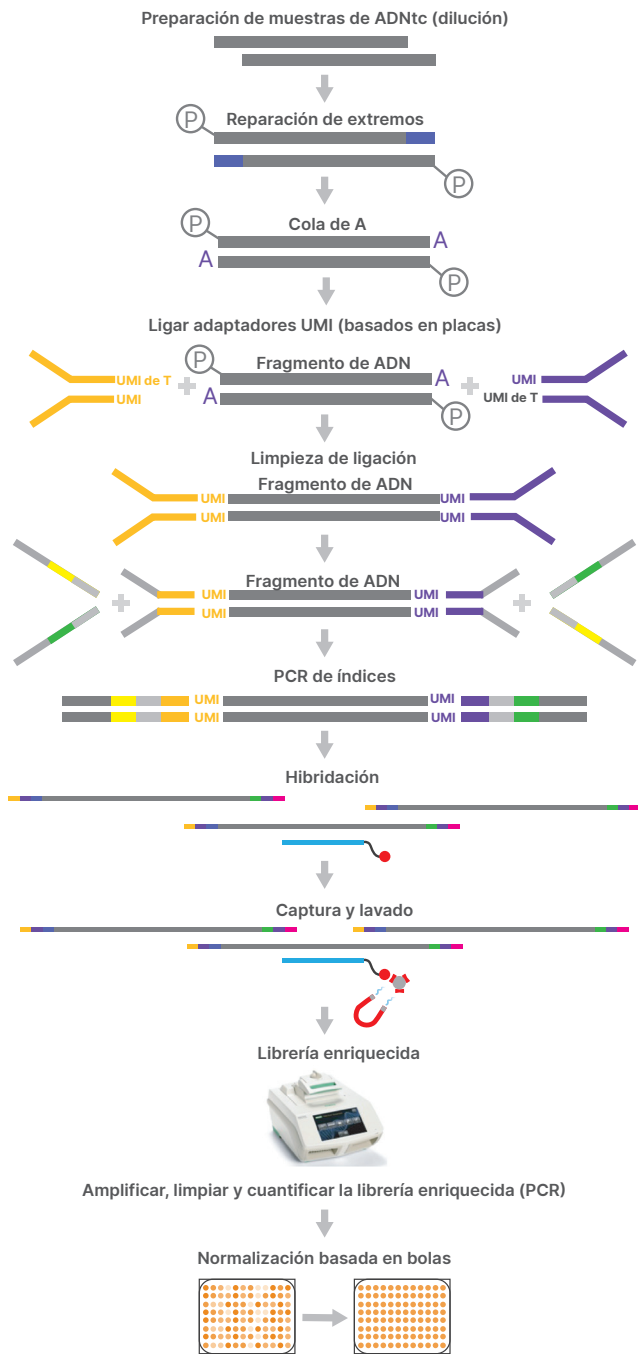


Figura 4: Preparación de librerías por hibridación y captura con UMI. El enriquecimiento selectivo utiliza sondas lo suficientemente grandes como para conferir una alta especificidad de unión, pero que aún permiten la hibridación con objetivos que contienen mutaciones. Los reactivos de UMI reducen las tasas de error, lo que aumenta la especificidad analítica y produce llamadas de variantes de mayor confianza.²⁵

Tabla 5: Duraciones estimadas del experimento de secuenciación

Sistema	NovaSeq 6000 System ^a		NovaSeq X Series	
Celda de flujo	S2	S4	1,5 B	10 000 M
N.º de muestras	Duración del experimento de secuenciación (n.º de celdas de flujo)			
4	–	–	22 h (1)	–
8	36 h (1)	–	22 h (2)	–
24	–	44 h (1)	–	25 h (1)
48	–	44 h (2)	–	25 h (2)

a. Las duraciones del experimento de secuenciación corresponden a NovaSeq 6000Dx Instrument en modo RUO.

Tabla 6: Detección precisa de biomarcadores de bajo nivel^a

Tipo de variante	Sensibilidad del análisis ^b	Especificidad del análisis ^c
Variantes pequeñas de nucleótidos (≥0,2 % de VAF)	≥90 %	≥99,9994 %
Variantes de múltiples nucleótidos (≥0,5 % de VAF)	≥90 %	≥95 %
Inserciones/deleciones (≥0,5 % de VAF)	≥90 %	≥95 %
Amplificaciones génicas (múltiplo de cambio ≥1,3)	≥95 %	≥95 %
Deleciones de genes (múltiplo de cambio ≤0,6)	≥95 %	≥95 %
Reordenaciones de genes (≥0,5 %)	≥95 %	≥95 %
Detección de MSI alta (≥ al 0,3 % de fracción tumoral)	≥95 %	≥95 %

a. Rendimiento verificado en NovaSeq 6000 System y NovaSeq X Series.

b. La sensibilidad del análisis se define como el porcentaje de detección en el nivel de variante indicado.

c. La especificidad del análisis se define como la capacidad de detectar un negativo conocido.

Análisis preciso y rápido

Llamada de variantes completa y eficiente

El proceso DRAGEN™ TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis utiliza algoritmos bioinformáticos completamente integrados para realizar la alineación de secuencias, la corrección de errores mediante el colapso de la secuencia y, a continuación, la llamada de variantes basándose en los datos sin procesar.

Se eliminan las lecturas duplicadas y los errores de secuenciación sin perder la señal de las variantes de baja frecuencia y se obtienen resultados de llamada de variantes de alta sensibilidad.

A diferencia de los resultados cualitativos de ensayos basados en PCR, el proceso DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis ofrece una puntuación de bMSI cuantitativa obtenida de más de 2300 centros de marcadores de MSI de homopolímeros. En el caso de los análisis de bTMB, el proceso de DRAGEN optimiza la sensibilidad mediante la medición de SNV sinónimas y no sinónimas, así como de indels. Después de la llamada de variantes y la corrección de errores, la precisión de la medición de la bTMB se mejora aún más filtrando las variantes germinales, las variantes de baja confianza y las variantes asociadas a la hematopoyesis clonal de potencial indeterminado.

El proceso DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis se ejecuta localmente en Illumina DRAGEN Server v4 o en la nube mediante Illumina Connected Analytics (ICA). ICA ofrece opciones de transferencia de datos e inicio del análisis automatizados, además de una plataforma genómica segura y basada en la nube para escalar el análisis secundario sin necesidad de adquirir y mantener una infraestructura local.²⁸ Hardware y software DRAGEN mejorados que reducen el tiempo de análisis de datos en aproximadamente un 85 % (tabla 7).

Tabla 7: Reducción del tiempo de análisis de datos de 24 muestras con una celda de flujo S4

Paso de análisis de datos	Solución A ^a	Proceso TruSight Oncology 500 ctDNA DRAGEN Analysis
Conversión de BCL	6 h	1 h
Alineación + colapso + realineación	170 h	11 h
Llamada de reordenación de genes	10 h	2 h
Llamada de variantes	24 h	8 h
Duración total	Aprox. 9 días	Aprox. 20 h (aprox. el 85 % de reducción)

a. Un solo nodo (128 Gb de memoria, CPU de 24 núcleos), proceso no paralelo.

Interpretación de datos optimizada

Después de la identificación de la clase de variante y el tipo de biomarcador mediante un análisis secundario, el siguiente paso es interpretar los datos para extraer un significado biológicamente relevante. Se pueden utilizar Illumina Connected Insights,[†] Velsera Clinical Genomics Workspace y aplicaciones de terceros.

Los archivos de llamada de variantes producidos localmente o a través de la nube con Illumina Connected Analytics se pueden introducir automáticamente en Illumina Connected Insights. Cuando se combina con la integración del sistema de secuenciación y las capacidades de autolanzamiento de Connected Analytics, el flujo de trabajo de análisis se puede automatizar completamente con Connected Insights, eliminando la necesidad de transferencias de datos manuales, lo que da como resultado un informe final personalizable.

Resultados fiables y reproducibles

TruSight Oncology 500 ctDNA v2 proporciona una detección sensible de variantes genómicas y biomarcadores en una muestra de ADNec, incluso cuando está presente a bajas concentraciones. Para demostrar los resultados de alta calidad que se logran con TruSight Oncology 500 ctDNA v2, Illumina realizó varios estudios que evaluaban la capacidad de llamada de variantes pequeñas de ADN, CNV, reordenaciones de genes, TMB y MSI. Los resultados de rendimiento se verificaron en NovaSeq 6000 System y NovaSeq X Series.

SNV e indels

Una de las ventajas de la química de enriquecimiento de objetivos es el uso de sondas diseñadas con un tamaño lo suficientemente grande para proporcionar una elevada especificidad en la unión, pero que también permiten la hibridación con objetivos que contienen pequeñas mutaciones. Dado que las SNV se han asociado a la susceptibilidad al cáncer en varios tipos de cáncer, es fundamental que cualquier método de CGP pueda detectar estas variantes a niveles bajos. TruSight Oncology 500 ctDNA v2 detecta de forma reproducible SNV e indels presentes a niveles tan bajos como el 0,2 % o 0,5 % de VAF, respectivamente (figura 5 y figura 6).

[†] No disponible en todos los países. Illumina Connected Insights admite el análisis terciario definido por el usuario a través de llamadas API a fuentes de conocimiento de terceros.

CNV

Los cambios en el número de copias en genes y tipos de tumores se han asociado a la carcinogénesis.²⁸ TruSight Oncology 500 ctDNA v2 incluye el análisis de 59 genes asociados a CNV y puede llamar amplificaciones con un límite de detección $\geq 1,3$ veces para las amplificaciones y $\leq 0,6$ para las deleciones (tabla 8).

Tabla 8: Rendimiento analítico de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 para CNV

Gen	Múltiplo de cambio previsto	Múltiplo de cambio observado	Tasa de detección
Amplificaciones			
<i>ERBB2</i>	1,5	1,50	100 %
<i>MET</i>	1,5	1,55	100 %
<i>MYC</i>	1,5	1,27	100 %
<i>ERBB2</i>	1,4	1,73	100 %
<i>MET</i>	1,4	1,46	100 %
<i>MYC</i>	1,4	1,22	100 %
<i>ERBB2</i>	1,3	1,35	100 %
<i>MET</i>	1,3	1,38	100 %
<i>MYC</i>	1,3	1,19	8 %
<i>ERBB2</i>	1,2	1,19	100 %
<i>MET</i>	1,2	1,22	100 %
<i>MYC</i>	1,2	N/P	0
Deleciones			
<i>BRCA1</i>	0,85	0,86	16 %
<i>BRCA2</i>	0,85	N/P	0
<i>BRCA1</i>	0,80	0,79	100 %
<i>BRCA2</i>	0,80	0,80	100 %
<i>BRCA1</i>	0,70	0,69	100 %
<i>BRCA2</i>	0,70	0,69	100 %

Se evaluaron con TruSight Oncology 500 ctDNA v2 las muestras con múltiplos de cambio conocidos en busca de amplificaciones génicas mediante controles sintéticos y estirpes celulares en busca de deleciones. Las CNV se diluyeron a tres niveles de VAF. LoD $\geq 1,3$ de múltiplo de cambio para amplificaciones génicas, $\leq 0,6$ para deleciones. Cabe señalar la fuerte correlación entre los múltiplos de cambio esperados y observados. Los datos mostrados son de la secuenciación en NovaSeq 6000 System; se observó un rendimiento similar en NovaSeq X Series.

Reordenaciones de genes

Las reordenaciones de genes pueden actuar como iniciadores genómicos del cáncer, lo que hace que la capacidad de detectarlas sea esencial para los estudios que se centran en comprender la base de la enfermedad. TruSight Oncology 500 ctDNA v2 detecta y caracteriza las reordenaciones de genes independientemente de su pareja, incluso cuando están presentes en concentraciones bajas (tabla 9).

Tabla 9: Rendimiento analítico de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 para reordenaciones de genes

Fusión	VAF prevista	VAF observada	Tasa de detección
<i>ALK:EML4</i>	0,60 %	0,48 %	100 %
<i>GOPC;ROS1:CD74</i>	0,60 %	0,39 %	100 %
<i>RET:NCOA4</i>	0,60 %	0,31 %	100 %
<i>ALK:EML4</i>	0,50 %	0,43 %	100 %
<i>GOPC;ROS1:CD74</i>	0,50 %	0,33 %	100 %
<i>RET:NCOA4</i>	0,50 %	0,27 %	100 %
<i>ALK:EML4</i>	0,40 %	0,36 %	100 %
<i>GOPC;ROS1:CD74</i>	0,40 %	0,24 %	100 %
<i>RET:NCOA4</i>	0,40 %	0,19 %	100 %
<i>ALK:EML4</i>	0,20 %	0,18 %	88 %
<i>GOPC;ROS1:CD74</i>	0,20 %	0,11 %	100 %
<i>RET:NCOA4</i>	0,20 %	0,12 %	83 %

Se evaluaron con TruSight Oncology 500 ctDNA v2 muestras con tres fusiones de ADN conocidas diluidas a niveles de VAF que oscilaban entre el 0,2 % y el 0,6 %. LoD para reordenaciones de genes = 0,5 %. La evaluación basada en NGS con TruSight Oncology 500 ctDNA v2 interroga más de 2300 centros de homopolímeros de 6-7 pb, lo que ayuda a reducir las tasas de error y a disminuir los posibles falsos positivos que se encuentran habitualmente en la secuenciación de homopolímeros. Los datos mostrados son para la secuenciación en NovaSeq 6000 System; se observó un rendimiento similar en NovaSeq X Series. VAF: frecuencia de variantes alélicas.

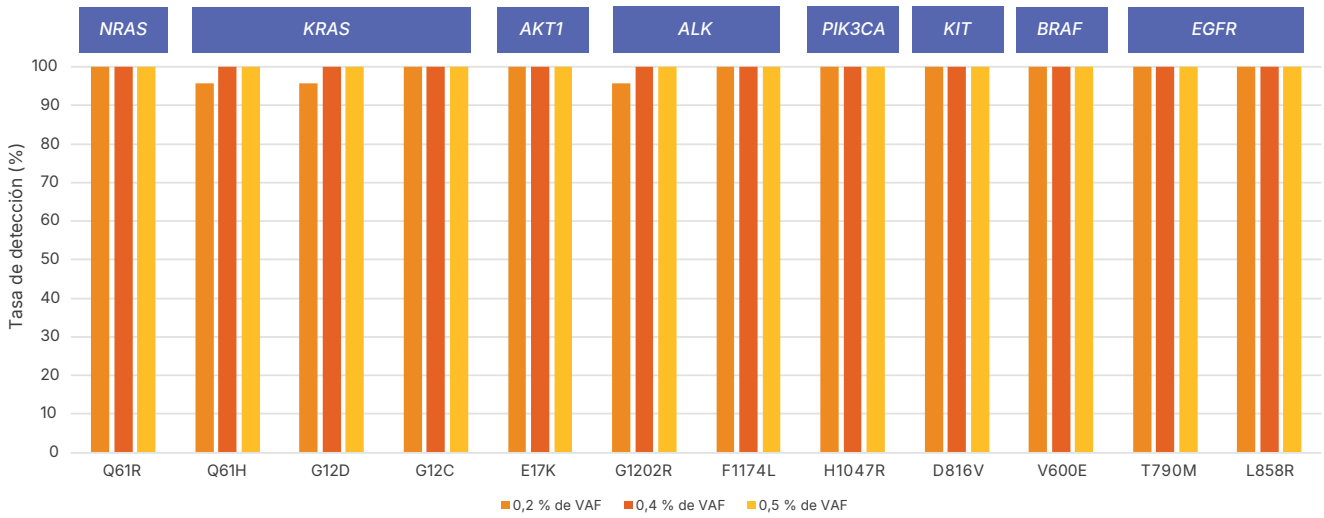


Figura 5: Alto rendimiento analítico para SNV clave en el LoD (0,2 % de VAF). Las muestras de control sintético con una VAF conocida para cada variante de nucleótido único se diluyeron a valores que oscilaban entre el 0,20 % y el 0,50 % de VAF y se analizaron con TruSight Oncology 500 ctDNA v2. Las SNV presentes a niveles bajos de tan solo el 0,2 % eran detectables. Los datos mostrados son para la secuenciación en NovaSeq 6000 System; se observó un rendimiento similar en NovaSeq X Series.

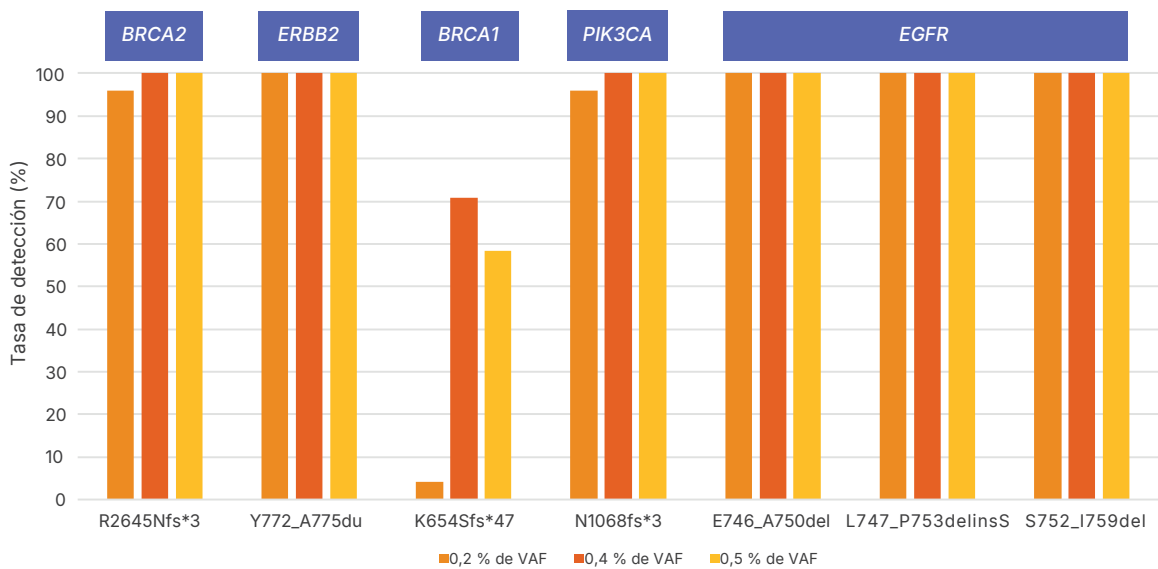


Figura 6: Alto rendimiento analítico para indels en el LoD (0,5 % de VAF). Las muestras de control sintético con una VAF conocida para cada inserción o deleción se diluyeron a valores que oscilaban entre el 0,20 % y el 0,50 % de VAF y se analizaron con TruSight Oncology 500 ctDNA v2. La detección de BRCA1 fue menor debido a que la variante se encuentra en una región altamente homopolimérica, lo que provoca un alto nivel de ruido de fondo. Los datos mostrados son de la secuenciación en NovaSeq 6000 System; se observó un rendimiento similar en NovaSeq X Series.

Firmas génicas de IO: MSI y TMB

La detección de MSI y TMB se basa en el análisis de varios locus genómicos. La evaluación basada en NGS con TruSight Oncology 500 ctDNA v2 interroga más de 2300 centros de homopolímeros de 6-7 pb, lo que ayuda a reducir las tasas de error y los posibles falsos positivos que se encuentran habitualmente en la secuenciación de homopolímeros.²⁸ Con una química sensible de preparación de librerías combinada con procesos bioinformáticos avanzados, TruSight Oncology 500 ctDNA v2 proporciona detección de MSI lograda hasta con un 0,3 % de fracción tumoral (figura 7).

Obtener un valor de bTMB preciso y reproducible a niveles de mutación bajos puede ser difícil con paneles más pequeños.⁷ TruSight Oncology 500 ctDNA v2 combina un contenido genómico completo con un panel de 1,94 Mb y algoritmos informáticos sofisticados para proporcionar estimaciones precisas de bTMB. El proceso bioinformático exclusivo de DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA aplica un filtrado avanzado para variantes de hematopoyesis tanto germinales como clonales, lo que da como resultado flujos de trabajo altamente concordantes solo tumorales y tumorales-normales ($R^2 = 0,992$) (figura 8).²⁹

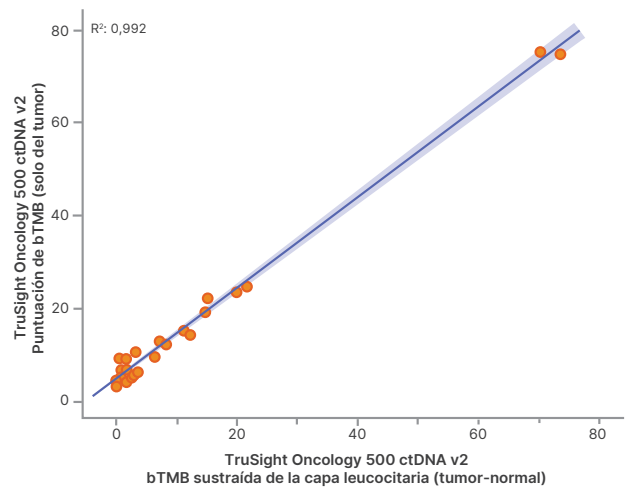


Figura 8: Alta correlación de los datos de bTMB entre los flujos de trabajo de análisis solo del tumor y del tumor-normal. Las puntuaciones de bTMB solo del tumor producidas con TruSight Oncology 500 ctDNA v2 con bioinformática avanzada y un panel lo suficientemente grande como para detectar la TMB (>1 Mb) muestran una alta concordancia con las puntuaciones de bTMB producidas a partir de un flujo de trabajo emparejado tumor-normal utilizando plasma y ADNec de la capa leucocitaria. Los datos mostrados son para la secuenciación en NovaSeq 6000 System; se observó un rendimiento similar en NovaSeq X Series.

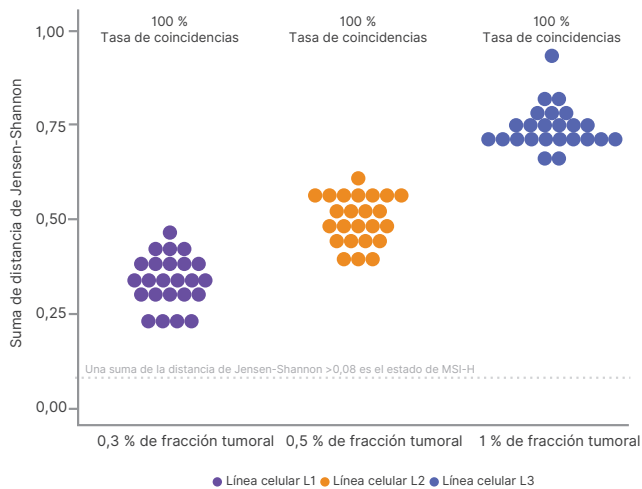


Figura 7: Rendimiento de MSI sensible para la investigación de IO. Fracciones tumorales producidas mediante la titulación de estirpes celulares preparadas nucleosómicamente con puntuaciones de MSI-H previamente conocidas ajustadas en un fondo de células de tipo natural. La alta sensibilidad analítica de MSI se logra con el exclusivo DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA v2.1 Analysis Software. Se evaluaron más de 2300 centros de homopolímeros. Los datos mostrados son para la secuenciación en NovaSeq 6000 System. Se observó un rendimiento similar en NovaSeq X Series.

Atributos del producto mejorados

Illustra ofrece servicio y asistencia de alto nivel para garantizar el éxito del funcionamiento del laboratorio. A fin de lograr una mayor eficiencia, TruSight Oncology 500 ctDNA v2 cuenta con:

- Notificación de cambios avanzada: Illustra notifica a los laboratorios seis meses antes de que se realice cualquier cambio significativo en TruSight Oncology 500 ctDNA.
- Certificado de análisis:[‡] cada producto TruSight Oncology 500 ctDNA v2 se emite con un certificado de análisis (CoA, Certificate Of Analysis) del departamento de garantía de calidad de Illustra que determina que el producto ha cumplido con sus especificaciones y calidad de lanzamiento del producto predeterminadas.
- Mayor vida útil: la vida útil mínima garantizada de los reactivos TruSight Oncology 500 ctDNA v2 se amplía a seis meses, lo que reduce el riesgo de caducidad del producto y permite a los laboratorios emplear los reactivos según las necesidades de análisis actuales.
- Envíos de un solo lote: ya disponibles para kits manuales y próximamente disponibles para kits automatizados en el 2.º semestre de 2024. Los envíos de un solo lote reducen la carga de la calificación de lotes y las pruebas de CC entrantes.

Solución integrada que permite CGP a partir de biopsia líquida

TruSight Oncology 500 ctDNA v2 es un ensayo de investigación multiplexado basado en NGS que analiza simultáneamente a partir de plasma cientos de biomarcadores relacionados con el cáncer, en consonancia con las directrices y las investigaciones de ensayos clínicos. El ensayo completo detecta diversos tipos de variantes en sangre de 523 genes implicados en varios tipos de tumores y evalúa los biomarcadores de IO y emergentes (bTMB, bMSI, *NTRK* y *ROS1*), sin necesidad de varias muestras para pruebas iterativas.

[‡] CoA disponible en 2024.

Las mejoras en la química y la ampliación de la compatibilidad del sistema de secuenciación han reducido el tiempo total hasta obtener el resultado a 3-4 días, han reducido el requisito de aporte a 20 ng de ADNec y han reducido el límite de detección a una VAF del 0,2 % (para SNV). Además, el flujo de trabajo compatible con la automatización reduce el tiempo de trabajo y reduce al mínimo la carga para el personal del laboratorio, creando un laboratorio optimizado para una mayor eficiencia. Gracias al aprovechamiento del amplio contenido genómico, de la tecnología de secuenciación líder en el sector y del software mejorado, TruSight Oncology 500 ctDNA v2 proporciona una solución integrada que hace posible abordar proyectos de investigación clínica basados en CGP con una complejidad operativa y de análisis mínima.

Más información

[TruSight Oncology 500 ctDNA v2](#)

[NovaSeq X Series](#)

[NovaSeq 6000 System](#)

[NovaSeq 6000Dx Instrument](#)

[Análisis secundario de DRAGEN](#)

[Illustra Connected Analytics](#)

[Illustra Connected Insights](#)

Información para pedidos – Kits de preparación de librerías (manual)

Producto	N.º de catálogo
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 (24 samples)	20105899
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 for use with NovaSeq 6000 S2 (24 samples)	20105901
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 for use with NovaSeq 6000 S4 (24 samples)	20105902
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 (24 samples) plus Velsera Interpretation Report	20105905
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 plus Velsera Interpretation Report, for use with NovaSeq 6000 S2 (24 samples)	20105907
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 plus Velsera Interpretation Report, for use with NovaSeq 6000 S4 (24 samples)	20105908
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 (24 samples) plus Connected Insights Interpretation Report	20105911
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 plus Connected Insights Interpretation Report, for use with NovaSeq 6000 S2 (24 samples)	20105913
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 plus Connected Insights Interpretation Report, for use with NovaSeq 6000 S4 (24 samples)	20105914

Información para pedidos – Kits de preparación de librerías (automatizada)

Producto	N.º de catálogo
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 for Automation (48 samples)	20105900
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit, for use with NovaSeq 6000 S2 (48 samples)	20105903
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit, for use with NovaSeq 6000 S4 (48 samples)	20105904
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 for Automation (48 samples) plus Velsera Interpretation Report	20105906
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit plus Velsera Interpretation Report, for use with NovaSeq 6000 S2 (48 samples)	20105909
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit plus Velsera Interpretation Report, for use with NovaSeq 6000 S4 (48 samples)	20105910
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 for Automation (48 samples) plus Connected Insights Interpretation Report	20105912
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit plus Connected Insights Interpretation Report, for use with NovaSeq 6000 S2 (48 samples)	20105915
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit plus Connected Insights Interpretation Report, for use with NovaSeq 6000 S4 (48 samples)	20105916

Información para pedidos – Adaptadores de índices

Producto	N.º de catálogo
IDT for Illumina UMI DNA/RNA UD Indexes Set A, Ligation (96 Indexes, 96 Samples)	20034701
IDT for Illumina UMI DNA/RNA UD Indexes Set B, Ligation (96 Indexes, 96 Samples)	20034702
IDT for Illumina UMI DNA/DNA Index Anchors Set A for Automation	20066404
IDT for Illumina UMI DNA/DNA Index Anchors Set B for Automation	20063213

Información para pedidos – Reactivos de secuenciación

Producto	N.º de catálogo
NovaSeq 6000 S2 Reagent Kit v1.5 (300 cycles)	20028314
NovaSeq 6000 S4 Reagent Kit v1.5 (300 cycles)	20028312
NovaSeq™ X Series 1.5B Reagent Kit (300 cycles)	20104705
NovaSeq X Series 10B Reagent Kit (300 cycles)	20085594

Información para pedidos – Análisis

Producto	N.º de catálogo
Generación de informes de variantes locales	
Illumina DRAGEN Server v4	20051343
Illumina DRAGEN Server Installation	20031995
Illumina DRAGEN Server v4 Support Plan	20085832
Field Delivered Applications Training	15032919
Generación de informes de variantes basada en la nube	
ICA Basic Annual Subscription	20044874
ICA Professional Annual Subscription	20044876
ICA Enterprise Annual Subscription	20038994
ICA Enterprise Compliance Add-on	20066830
Subscription ICA Training and Onboarding	20049422
Interpretación de variantes	
Illumina Connected Insights – Annual Subscription	20090137
Illumina Connected Insights-Research – Annual Subscription	20112516
Illumina Connected Insights – Oncology Genome Equivalent Samples (VCF)	20090138
Illumina Connected Insights Training – Remote	20092376
Informatics Professional Services	20071787
Almacenamiento en la nube	
Illumina Analytics – 1 iCredit	20042038
Illumina Analytics Starter Package – 1,000 iCredits	20042039
Illumina Analytics – 5,000 iCredits	20042040
Illumina Analytics – 50,000 iCredits	20042041
Illumina Analytics – 100,000 iCredits	20042042

Bibliografía

1. Lim C, Tsao MS, Le LW, et al. Biomarker testing and time to treatment decision in patients with advanced nonsmall-cell lung cancer. *Ann Oncol*. 2015;26(7):1415-1421. doi:10.1093/annonc/mdv208
2. Yu TM, Morrison C, Gold EJ, Tradonsky A, Layton AJ. Multiple Biomarker Testing Tissue Consumption and Completion Rates With Single-gene Tests and Investigational Use of OncoPrint Dx Target Test for Advanced Non-Small-cell Lung Cancer: A Single-center Analysis. *Clin Lung Cancer*. 2019;20(1):20-29.e8. doi:10.1016/j.clcc.2018.08.010
3. Reitsma M, Fox J, Borre PV, et al. Effect of a Collaboration Between a Health Plan, Oncology Practice, and Comprehensive Genomic Profiling Company from the Payer Perspective. *J Manag Care Spec Pharm*. 2019;25(5):601-611. doi:10.18553/jmcp.2019.18309
4. Zehir A, Benayed R, Shah RH, et al. Mutational landscape of metastatic cancer revealed from prospective clinical sequencing of 10,000 patients [la corrección publicada aparece en Nat Med. 4 de agosto de 2017;23 (8):1004]. *Nat Med*. 2017;23(6):703-713. doi:10.1038/nm.4333
5. Kopetz S, Mills Shaw KR, Lee JJ, et al. Use of a Targeted Exome Next-Generation Sequencing Panel Offers Therapeutic Opportunity and Clinical Benefit in a Subset of Patients With Advanced Cancers. *JCO Precis Oncol*. 2019;3:PO.18.00213. Fecha de publicación: 8 de marzo de 2019. doi:10.1200/PO.18.00213
6. Drilon A, Wang L, Arcila ME, et al. Broad, Hybrid Capture-Based Next-Generation Sequencing Identifies Actionable Genomic Alterations in Lung Adenocarcinomas Otherwise Negative for Such Alterations by Other Genomic Testing Approaches. *Clin Cancer Res*. 2015;21(16):3631-3639. doi:10.1158/1078-0432.CCR-14-2683
7. Buchhalter I, Rempel E, Endris V, et al. Size matters: Dissecting key parameters for panel-based tumor mutational burden analysis. *Int J Cancer*. 2019;144(4):848-858. doi:10.1002/ijc.31878
8. Chalmers ZR, Connelly CF, Fabrizio D, et al. Analysis of 100,000 human cancer genomes reveals the landscape of tumor mutational burden. *Genome Med*. 2017;9(1):34. Fecha de publicación: 19 de abril de 2017. doi:10.1186/s13073-017-0424-2
9. Hagemann IS, Devarakonda S, Lockwood CM, et al. Clinical next-generation sequencing in patients with non-small cell lung cancer. *Cancer*. 2015;121(4):631-639. doi:10.1002/cncr.29089
10. Bettegowda C, Sausen M, Leary RJ, et al. Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage human malignancies. *Sci Transl Med*. 2014;6(224):224ra24. doi:10.1126/scitranslmed.3007094
11. Saarenheimo J, Eigeliene N, Andersen H, Tiirola M, Jekunen A. The Value of Liquid Biopsies for Guiding Therapy Decisions in Non-small Cell Lung Cancer. *Front Oncol*. 2019;9:129. doi:10.3389/fonc.2019.00129
12. Rapisuwon S, Vietsch EE, Wellstein A. Circulating biomarkers to monitor cancer progression and treatment. *Comput Struct Biotechnol J*. 2016;14:211-222. Fecha de publicación: 1 de junio de 2016. doi:10.1016/j.csbj.2016.05.004
13. Aggarwal C, Thompson JC, Black TA, et al. Clinical Implications of Plasma-Based Genotyping With the Delivery of Personalized Therapy in Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer. *JAMA Oncol*. 2019;5(2):173-180. doi:10.1001/jamaoncol.2018.4305
14. 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. *Clin Cancer Res*. 2019;25(15):4691-4700. doi:10.1158/1078-0432.CCR-19-0624
15. Palmero R, Taus A, Viteri S, et al. Biomarker Discovery and Outcomes for Comprehensive Cell-Free Circulating Tumor DNA Versus Standard-of-Care Tissue Testing in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *JCO Precision Oncology*. 2021;5:93-102. doi:10.1200/PO.20.00241
16. Mack PC, Banks KC, Espenschied CR, et al. Spectrum of driver mutations and clinical impact of circulating tumor DNA analysis in non-small cell lung cancer: Analysis of over 8000 cases. *Cancer*. 2020;126(14):3219-3228. doi:10.1002/cncr.32876
17. Rolfo C, Mack P, Scagliotti GV, et al. Liquid Biopsy for Advanced NSCLC: A Consensus Statement From the International Association for the Study of Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2021;16(10):1647-1662. doi:10.1016/j.jtho.2021.06.017
18. Mosele F, Remon J, Mateo J, et al. Recommendations for the use of next-generation sequencing (NGS) for patients with metastatic cancers: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group. *Ann Oncol*. 2020;31(11):1491-1505. doi:10.1016/j.annonc.2020.07.014
19. Pascual J, Attard G, Bidard FC, et al. ESMO recommendations on the use of circulating tumour DNA assays for patients with cancer: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group. *Ann Oncol*. 2022;33(8):750-768. doi:10.1016/j.annonc.2022.05.520
20. Illumina. TruSight Oncology 500 ctDNA data sheet. [illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/trusight-oncology-500-ctdna-data-sheet-m-gl-00843/trusight-oncology-500-ctdna-data-sheet-m-gl-00843.pdf](https://www.illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/trusight-oncology-500-ctdna-data-sheet-m-gl-00843/trusight-oncology-500-ctdna-data-sheet-m-gl-00843.pdf). Fecha de consulta: 20 de septiembre de 2023.
21. Roche. AVENIO ctDNA Analysis Kits. Sequencing. [sequencing.roche.com/us/en/products/product-category/avenio-ctdna-analysis-kits.html](https://www.sequencing.roche.com/us/en/products/product-category/avenio-ctdna-analysis-kits.html). Fecha de consulta: 20 de septiembre de 2023.

22. Tempus. Tempus xF. www.tempus.com/oncology/genomic-profiling/xf/. Fecha de consulta: 20 de septiembre de 2023.
23. Personal Genome Diagnostics. PGDx elio plasma complete. <https://www.personalgenome.com/products/elio-plasma-complete>. Fecha de consulta: 20 de septiembre de 2023.
24. Illumina. TruSight Oncology UMI Reagents data sheet. illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/datasheets/trusight-oncology-umi-reagents-datasheet-1000000050425.pdf. Fecha de consulta: 20 de septiembre de 2023.
25. Illumina. Sequencing accuracy with Unique Molecular Identifiers. illumina.com/techniques/sequencing/ngs-library-prep/multiplexing/unique-molecular-identifiers.html. Fecha de consulta: 20 de septiembre de 2023.
26. Socea JN, Stone VN, Qian X, Gibbs PL, Levinson KJ. [Implementing laboratory automation for next-generation sequencing: benefits and challenges for library preparation](#). *Front Public Health*. 2023;11:1195581. doi:10.3389/fpubh.2023.1195581
27. Datos recopilados. Illumina, Inc. 2024.
28. Beroukhir R, Mermel CH, Porter D, et al. [The landscape of somatic copy-number alteration across human cancers](#). *Nature*. 2010;463(7283):899-905. doi:10.1038/nature08822
29. Illumina. Analysis of TMB and MSI status with TruSight Oncology 500 application note. illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/appnotes/trusight-oncology-500-tmb-analysis-1170-2018-009.pdf. Fecha de consulta: 20 de septiembre de 2023.



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-02196 ESP v4.0