

TruSight^{MC} Oncology 500 ctDNA v2

Profilage génomique
complet, rapide et sensible
à partir d'échantillons
de biopsie liquide

- Détectez les biomarqueurs présents avec une fréquence allélique de variants (FAV) aussi basse que 0,2 % à partir de 20 ng d'ADNtc (5 à 30 ng possibles).
- Obtenez des résultats complets en moins de quatre jours avec des options manuelle ou automatisée.
- Analysez plus de 500 gènes et signatures génomiques en immuno-oncologie (IO) (IMS, CMT) en un seul test.
- Tirez parti de l'économie transformationnelle et des tailles de lots aussi petites que quatre échantillons avec la série NovaSeq^{MC} X.



La valeur que l'ADNtc et la biopsie liquide apportent au profilage génomique complet

Comprendre les bases génomiques du cancer peut aider à identifier les altérations qui contribuent à l'évolution de la maladie et permettre des progrès en médecine de précision. Le profilage génomique complet (PGC) est l'une des méthodes pour aborder ces études oncologiques. Le PGC est une application de médecine de précision qui tire parti du séquençage de nouvelle génération (SNG) pour évaluer un large éventail de biomarqueurs en un seul test, en utilisant moins d'échantillons et en obtenant des résultats plus rapidement qu'en suivant des stratégies comportant plusieurs tests itératifs^{1,2}. En outre, les tests de PGC peuvent identifier des variants plus pertinents sur le plan clinique que les approches de test conventionnelles, telles que les tests monogéniques et les panels de SNG de points chauds³⁻⁶. Cette capacité à détecter davantage de variants gagne en importance à mesure qu'un nombre croissant de biomarqueurs sont découverts, notamment les signatures génomiques en immuno-oncologie (IO) telles que la charge mutationnelle tumorale (CMT) qui nécessitent de grands panels de SNG (> 1 Mb) pour une identification précise^{7,8}.

L'approche standard du PGC implique l'utilisation d'échantillons de tissus tumoraux solides, notamment des échantillons fixés au formol et inclus en paraffine (FFIP). Parfois, la quantité de tissus peut ne pas être suffisante (cela peut se produire dans jusqu'à 25 % des cas⁹), la tumeur peut être inaccessible ou l'obtention des résultats de la biopsie tissulaire peut prendre trop de temps. Par conséquent, la réalisation d'un PGC avec de l'ADN tumoral circulant (ADNtc) à partir d'une biopsie liquide sanguine peut fournir des renseignements sur le contexte génomique de la tumeur. L'ADNtc a été détecté à tous les stades de la progression du cancer et dans plusieurs types de tumeurs solides¹⁰, notamment les cancers du poumon, du sein, des ovaires et colorectaux.

L'utilisation de l'ADNtc pour le PGC présente plusieurs avantages :

- un accès facile à l'échantillon par une procédure de prélèvement sanguin non effractive¹¹;
- la capture des clones de plusieurs tumeurs ou même de la même tumeur¹², surmontant les biais d'échantillonnage inhérents à la biopsie de tumeurs solides et élargissant la capacité d'identifier davantage d'altérations¹²⁻¹⁵;
- l'obtention de données temporelles et spatiales sur l'hétérogénéité inter et intratumorale¹¹;
- la répétition de l'analyse pour évaluer la sélection clonale.

La biopsie liquide fournit une approche non effractive pour obtenir de l'ADN acellulaire (ADNa), qui comprend l'ADNtc, à partir du plasma sanguin pour le profilage tumoral (figure 1). Pour certaines maladies, comme le cancer du poumon non à petites cellules (CPNPC), l'ajout du PGC de la biopsie liquide à l'analyse tissulaire peut augmenter de 15 à 48 %^{13,14,16} l'identification de mutations pertinentes sur le plan clinique. En outre, des études sur le cancer du poumon non à petites cellules ont révélé que les analyses de l'ADNa concordent fortement avec les analyses tissulaires¹⁴. Aujourd'hui, la biopsie liquide est de plus en plus incluse dans les directives professionnelles (> 12 maladies) comme méthode d'obtention d'échantillons pour le profilage moléculaire¹⁷⁻¹⁹.

Pour tirer profit de la biopsie liquide, il est essentiel d'utiliser une analyse très sensible et spécifique capable de détecter les mutations somatiques présentes à de basses fréquences dans l'ADNtc. Le test TruSight Oncology 500 ctDNA²⁰ d'origine a relevé ce défi, exploitant la puissance de la technologie éprouvée de SNG d'Illumina et atteignant la sensibilité analytique élevée nécessaire à la réalisation du PGC. S'appuyant sur ce succès, TruSight Oncology 500 ctDNA v2 (tableau 1, tableau 2) offre des améliorations de la chimie et du flux de travail qui augmentent la sensibilité et raccourcissent le temps de réponse (tableau 3).



Figure 1 : La biopsie liquide permet une approche non effractive du PGC : l'ADNtc, présent dans l'ADN acellulaire dans le plasma, peut être obtenu par une simple prise de sang analysée à l'aide de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 pour détecter la présence de biomarqueurs pertinents pour le cancer dans les principales lignes directrices.

Tableau 1 : TruSight Oncology ctDNA v2 en bref

Paramètre	Caractéristique
Système	Série NovaSeq X NovaSeq 6000 System NovaSeq 6000Dx Instrument (mode RUO) ^a
Débit d'échantillons	4 à 48 échantillons par analyse
Tailles des trousseaux de préparation des librairies	24 échantillons (manuel) 48 échantillons (automatisé)
Échantillons par Flow Cell	4 échantillons par Flow Cell 1.5B 8 échantillons par Flow Cell S2 24 échantillons par Flow Cell 10B 24 échantillons par Flow Cell S4
Capacité d'automatisation	Méthodes qualifiées d'Illumina disponibles pour Hamilton Microlab STAR
Taille du panel	1,94 Mb d'ADN
Contenu du panel	523 gènes pour les petits variants 59 gènes pour les VNC 23 gènes pour les réarrangements de gènes IMS (> 2 300 locus) CMT (> 1 Mb)
Type d'échantillon	ADNa dérivé du plasma sanguin
Exigence d'entrée d'ADN	20 ng d'ADNa (5 à 30 ng possibles) ^b
Durée totale du test	De la préparation de librairies au rapport de variants : • 3 jours sur la série NovaSeq X • 4 jours sur NovaSeq 6000 System
Durée de manipulation	8 à 24 échantillons (manuel) : ~ 2,5 h 8 à 24 échantillons (automatisé) : ~ 1,5 h 48 échantillons (manuel) : ~ 4,5 h 48 échantillons (automatisé) : ~ 1,5 h
Temps de préparation des librairies ^c	8 à 24 échantillons (manuel) : ~ 8,5 h 8 à 24 échantillons (automatisé) : ~ 9,5 h 48 échantillons (manuel) : ~ 10 h 48 échantillons (automatisé) : ~ 11 h
Durée de l'analyse de séquençage	22 à 44 h (voir le tableau 5)
Longueur de lecture de l'analyse de séquençage	2 × 151 pb
Couverture de séquençage	35 000×
Durée d'analyse des variants	8 échantillons : 9 à 12 h 24 échantillons : 20 à 24 h 48 échantillons : 40 à 48 h

- a. Compatibilité du serveur embarqué pour NovaSeq 6000Dx Instrument à partir de la seconde moitié de 2024.
- b. Quantification recommandée avec systèmes TapeStation ou Fragment Analyzer d'Agilent. Pour en savoir plus sur les quantités d'entrées, consultez la [note technique Utilisation de quantités d'entrées inférieures avec TruSight Oncology ctDNA v2](#).
- c. Comprend la préparation de librairies, l'enrichissement et la normalisation par billes.

Tableau 2 : Performance de TruSight Oncology ctDNA v2^a

Paramètre	Caractéristique
Limite de détection (LDD)	FAV de 0,2 % pour les SNV FAV de 0,5 % pour les MNV et les indels FAV de 0,5 % pour les réarrangements de gènes Modification de facteur ≥ 1,3 pour l'amplification génique Modification de facteur ≤ 0,6 pour la suppression des gènes ≥ 0,3 % de fraction tumorale pour l'IMS
Sensibilité analytique (à la LDD)	≥ 90 % (à la LDD de la FAV de 0,2 % pour les SNV) ≥ 95 % (à la LDD de la FAV de 0,2 % pour les points chauds de SNV) ≥ 95 % (à la LDD de la FAV de 0,5 % pour tous les autres types de variants)
Spécificité analytique	≥ 99,999 %

a. Vérifiée sur NovaSeq 6000 System et la série NovaSeq X.

Tableau 3 : Avancées avec TruSight Oncology ctDNA v2

Avantage	TruSight Oncology 500 ctDNA v2	TruSight Oncology 500 ctDNA (version d'origine)
Sensibilité du test améliorée	Étapes de réparation des extrémités et d'extension homopolymérique A distinctes	Étapes de réparation des extrémités et d'extension homopolymérique A combinées
Flux de travail plus rationalisé et expérience utilisateur améliorée	Index/IMU en plaques	Index/IMU en tubes
Flux de travail plus rapide et en une seule journée	Étape d'hybridation/ de capture unique	Deux étapes d'hybridation et de capture
Plus d'évolutivité	192 index	16 index
Tailles de lots plus importantes	4 à 48 échantillons ^a	8 à 48 échantillons
Automatisation activée	Oui	Non

a. Lots de quatre échantillons disponibles sur la série NovaSeq X. IMU, identifiant moléculaire unique.

Contenu complet

Le contenu de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 a été conçu en collaboration avec les autorités reconnues de la communauté oncologique et comprend les biomarqueurs actuels et émergents avec une couverture complète des gènes que l'on retrouve dans les principales lignes directrices et dans les principaux essais cliniques pour plusieurs types de tumeurs. La conception de la sonde de panel permet de capturer les réarrangements de gènes connus et nouveaux, et comprend 523 gènes pour la détection des variants susceptibles de jouer un rôle dans la tumorigenèse, aujourd'hui et à l'avenir. Les biomarqueurs comprennent des variants mononucléotidiques (SNV, single-nucleotide variant), des variants nucléotidiques multiples (MNV, multi-nucleotide variant), des insertions/suppressions (indels), des variants du nombre de copies (VNC), des réarrangements de gènes et des signatures génomiques complexes en IO, comme l'instabilité microsatellitaire sanguine (bMSI, blood-based microsatellite instability) et la CMT sanguine (bTMB, blood-based TMB) (tableau 4).

 Pour obtenir une liste complète des gènes, consultez la [page du produit TruSight Oncology 500 ctDNA v2](#).

Tableau 4 : Exemples de types de variants détectés par TruSight Oncology 500 ctDNA v2

Type de variant	Exemple
SNV et indels	<i>EGFR, POLE, TMPRSS2, BRAF</i>
Réarrangement de gènes	<i>ALK, ROS1, NTRK1, NTRK2, RET</i>
VNC	<i>HER2</i>
IMS	Score d'IMS
CMT	Score de CMT

Flux de travail rapide et intégré

TruSight Oncology 500 ctDNA v2 fait partie d'un flux de travail de PGC intégré qui s'étend de l'entrée des échantillons au rapport final (figure 2). L'utilisation de trousse et de méthodes automatisées de préparation de bibliothèques, d'outils d'appel des variants et de logiciels d'interprétation et de génération de rapports permet un flux de travail fluide qui peut être réalisé en moins de quatre jours, soit moins de la moitié du temps nécessaire pour les autres tests de PGC à partir d'une biopsie liquide (figure 3).

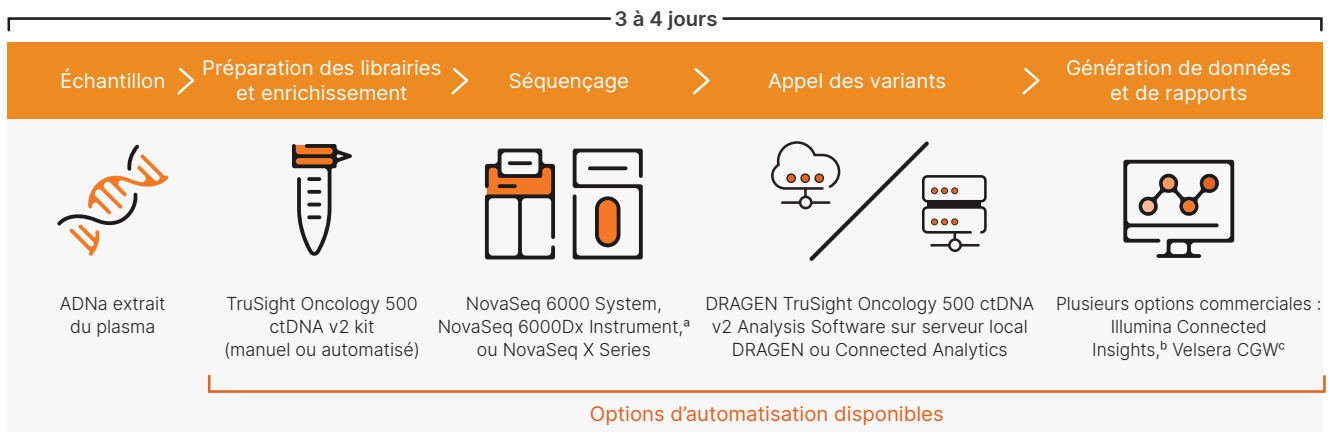


Figure 2 : Flux de travail de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 : TruSight Oncology 500 ctDNA v2 s'intègre aux flux de travail des laboratoires actuels, passant de l'ADNa à un rapport de variants en moins de quatre jours. DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software peut fonctionner sur un serveur local DRAGEN ou dans le nuage via Illumina Connected Analytics. a. NovaSeq 6000Dx Instrument (mode RUO). b. Disponible dans certains pays. La gamme de produits 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. c. D'autres options de tiers sont disponibles.

TruSight Oncology 500 ctDNA v2

3 à 4 jours

Trousse commercialisée 1²¹

5 jours

Service centralisé 1²²

7 jours

Trousse commercialisée 2²³

8 jours

Figure 3 : Durée de traitement raccourcie avec TruSight Oncology 500 ctDNA v2 : comparaison du temps nécessaire pour passer de l'échantillon au rapport pour les tests de PGC à partir d'une biopsie liquide qui comprennent les biomarqueurs en IO de bMSI et de bTMB.

Préparation optimisée des bibliothèques

À l'aide de la chimie éprouvée de séquençage par synthèse (SBS, Sequencing by Synthesis) d'Illumina, TruSight Oncology 500 ctDNA v2 permet le profilage génomique complet à partir de seulement 20 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. L'ADNtc représente une petite fraction d'ADNa (généralement < 5 % de l'ADNa total), des méthodes puissantes sont donc nécessaires pour séparer le signal du bruit. Pour permettre l'identification des variants à ultra-faible fréquence, la préparation des bibliothèques 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 bibliothèques basées sur l'ADN et d'identifiants moléculaires uniques (IMU)²⁴ afin de réduire les taux d'erreur (figure 4). Les avancées réalisées dans la chimie des produits ont réduit le nombre d'hybridations de deux à un dans TruSight Oncology 500 ctDNA v2, ce qui permet de réaliser la préparation des bibliothèques en un jour et d'obtenir des résultats plus rapidement. Elles ont également permis d'améliorer la sensibilité analytique jusqu'à obtenir une FAV de 0,2 % pour les SNV. Cette approche d'hybridation/de capture ciblée permet de réduire la perte d'échantillons en présence des variations naturelles d'allèles et des artefacts de séquençage.



En savoir plus sur l'utilisation de quantités d'entrées aussi faibles que 5 ng avec TruSight Oncology ctDNA v2.



En savoir plus sur les identifiants moléculaires uniques (IMU).

Flux de travail basé sur l'automatisation

TruSight Oncology 500 ctDNA v2 offre des options manuelle et automatisée pour permettre la préparation de bibliothèques évolutives. Illumina a établi un partenariat avec Hamilton, un fabricant de premier plan dans le domaine de la manipulation des liquides, afin de produire un flux de travail entièrement automatisé pour les tests TruSight Oncology 500 ctDNA v2 sur Hamilton Star. Les trousse de préparation de bibliothèques propices à l'automatisation garantissent une quantité suffisante de réactifs pour préparer 48 bibliothèques et inclure le volume mort requis pour le robot avec peu de déchets de réactifs. Les flux de travail automatisés permettent d'obtenir les mêmes résultats de haute qualité que ceux produits par les protocoles manuels, tout en réduisant la durée de manipulation de 40 %, libérant ainsi environ huit heures pour d'autres activités de laboratoire. Dans l'ensemble, l'automatisation permet aux laboratoires d'économiser sur les coûts de main-d'œuvre et d'améliorer leur efficacité²⁶.

Séquençage puissant

Les bibliothèques TruSight Oncology 500 ctDNA v2 sont séquencées sur NovaSeq 6000 Sequencing System, NovaSeq 6000Dx Instrument (mode RUO)* ou la série NovaSeq X. La série NovaSeq X offre un flux de travail plus rapide, réduisant la durée de séquençage d'environ 40 % par rapport au NovaSeq 6000 System (figure 6). Quelle que soit la plateforme utilisée, le séquençage a lieu à une profondeur élevée (400 millions de lectures par échantillon à environ 35 000x) pour améliorer la sensibilité. Le résultat est la capacité de détecter des mutations à une fréquence allélique des variants (FAV) de 0,2 % pour les SNV, avec ≥ 90 % de sensibilité analytique et ≥ 95 % de spécificité analytique (tableau 6). En outre, la série NovaSeq X rend possible l'économie transformationnelle en réduisant le coût du séquençage par échantillon²⁷.

* Séquençage sur NovaSeq 6000Dx Instrument disponible à la seconde moitié de 2024.

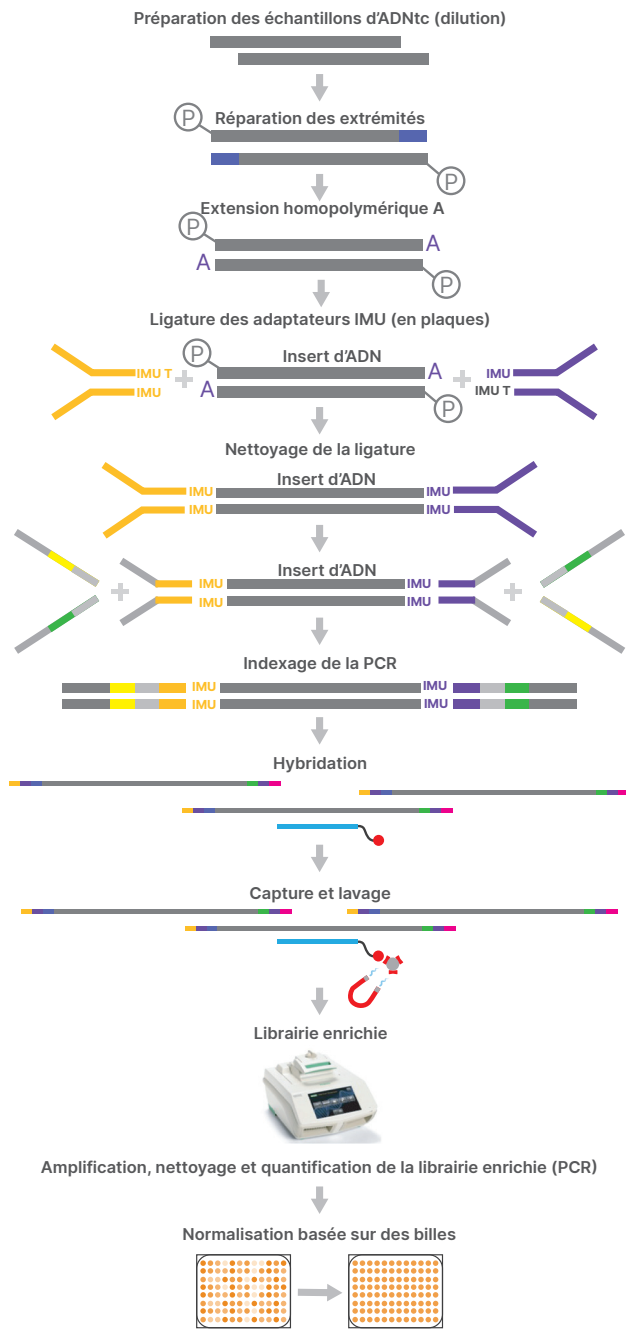


Figure 4 : Préparation de bibliothèques par hybridation/capture basée sur les IMU : l'enrichissement ciblé utilise des sondes qui sont suffisamment grandes pour conférer une spécificité de liaison élevée, mais aussi pour permettre l'hybridation de cibles contenant des mutations. Les réactifs IMU réduisent les taux d'erreur, ce qui augmente la spécificité analytique et produit des appels de variants hautement fiables²⁵.

Tableau 5 : Estimation des durées d'analyse de séquençage

Système	NovaSeq 6000 System ^a		Série NovaSeq X	
	Flow Cell	S2	S4	1.5B
Nbre d'échantillons	Durée de l'analyse de séquençage (nbre de Flow Cell)			
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. Les durées d'analyse de séquençage s'appliquent au NovaSeq 6000Dx Instrument en mode RUO.

Tableau 6 : Détection précise des biomarqueurs de bas niveau^a

Type de variant	Sensibilité analytique ^b	Spécificité analytique ^c
Petits variants nucléotidiques (FAV ≥ 0,2 %)	≥ 90 %	≥ 99,9994 %
Variants nucléotidiques multiples (FAV ≥ 0,5 %)	≥ 90 %	≥ 95 %
Insertions/suppressions (FAV ≥ 0,5 %)	≥ 90 %	≥ 95 %
Amplifications géniques (modification de facteur ≥ 1,3)	≥ 95 %	≥ 95 %
Suppression des gènes (modification de facteur ≤ 0,6)	≥ 95 %	≥ 95 %
Réarrangement de gènes (≥ 0,5 %)	≥ 95 %	≥ 95 %
Détection élevée d'IMS (≥ à 0,3 % de fraction tumorale)	≥ 95 %	≥ 95 %

a. Performance vérifiée sur le NovaSeq 6000 System et la série NovaSeq X.

b. La sensibilité analytique est définie comme étant le pourcentage de détection au niveau de variant énoncé.

c. La spécificité analytique est définie comme étant la capacité de détecter un négatif connu.

Analyse précise et accélérée

Appel de variants complet et efficace

Le pipeline DRAGEN^{MC} TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis utilise des algorithmes de bioinformatique accélérés et entièrement intégrés pour effectuer 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.

Contrairement aux résultats qualitatifs tirés des tests basés sur la PCR, le pipeline DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis fournit un score de bMSI quantitatif dérivé de plus de 2 300 sites de marqueurs d'IMS homopolymères. Pour l'analyse de la bTMB, le pipeline DRAGEN optimise la sensibilité en mesurant à la fois les SNV synonymes et non synonymes et les indels. Après l'appel des variants et la correction d'erreurs, la précision de la mesure de la bTMB 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.

Le pipeline DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis fonctionne sur un Illumina DRAGEN Server v4 ou dans le nuage via Illumina Connected Analytics (ICA). ICA fournit des options pour automatiser le transfert de données et lancer l'analyse, ainsi qu'une plateforme infonuagique de génomique sécurisée pour faire évoluer l'analyse secondaire sans devoir acquérir et entretenir une infrastructure locale²⁸. Les améliorations apportées au matériel et au logiciel DRAGEN permettent de diminuer la durée d'analyse des données d'environ 85 % (tableau 7).

Tableau 7 : Réduction de la durée d'analyse des données pour 24 échantillons à l'aide d'une Flow Cell S4

Étape d'analyse des données	Solution A ^a	Pipeline DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis
Conversion BCL	6 h	1 h
Alignement + combinaison + réalignement	170 h	11 h
Appel de réarrangement de gènes	10 h	2 h
Appel des variants	24 h	8 h
Durée totale	~ 9 jours	~ 20 h (~ 85 % de réduction)

a. Pipeline non parallélisé à un seul nœud (mémoire de 128 Go, 24 cœurs).

Interprétation rationalisée des données

Après l'identification de la classe de variants et du type de biomarqueurs par l'analyse secondaire, l'étape suivante consiste à interpréter les données pour extraire une signification pertinente d'un point de vue biologique. Illumina Connected Insights[†], Velsara Clinical Genomics Workspace et des applications tierces peuvent être utilisées.

Les fichiers d'appel de variants, produits localement ou via le nuage avec Illumina Connected Analytics, peuvent être automatiquement intégrés dans Illumina Connected Insights. Lorsqu'il est associé à l'intégration du système de séquençage et aux capacités de lancement automatique de Connected Analytics, le flux de travail d'analyse peut être entièrement automatisé avec Connected Insights, éliminant ainsi le besoin de transferts manuels de données, ce qui permet d'obtenir un rapport final personnalisable.

Résultats fiables et reproductibles

TruSight Oncology 500 ctDNA v2 fournit une détection sensible des variants génomiques et des biomarqueurs dans un échantillon d'ADNa, même lorsqu'ils sont présents à de faibles niveaux. Pour démontrer les résultats de grande qualité atteints avec le test TruSight Oncology 500 ctDNA v2, Illumina a effectué différentes études portant sur l'évaluation de la capacité à appeler les petits variants d'ADN, les VNC, les réarrangements de gènes, la CMT et l'IMS. Les résultats de performance ont été vérifiés sur le NovaSeq 6000 System et la série NovaSeq X.

SNV et indels

Un avantage de la chimie d'enrichissement des cibles est l'utilisation de sondes suffisamment grandes pour conférer une spécificité de liaison élevée, mais également pour permettre l'hybridation de cibles contenant de petites mutations. Étant donné que les SNV ont été associés à une susceptibilité au cancer dans divers types de cancer, il est essentiel que toutes les méthodes de PGC puissent détecter ces variants à de faibles niveaux. TruSight Oncology 500 ctDNA v2 détecte de manière reproductible les SNV et les indels présents avec une FAV aussi basse que 0,2 % ou 0,5 %, respectivement (figure 5 et figure 6).

[†] 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.

VNC

Les changements du nombre de copies dans des types de gènes et de tumeurs peuvent être associés à la tumorigenèse²⁸. TruSight Oncology 500 ctDNA v2 comprend l'analyse de 59 gènes associés à des VNC et peut appeler les amplifications avec une limite de détection à une modification de facteur $\geq 1,3\times$ et $\leq 0,6$ pour les suppressions (tableau 8).

Tableau 8 : Performance analytique de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 pour les VNC

Gène	Modification de facteur attendue	Modification de facteur observée	Taux de détection
Amplifications			
<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	S. O.	0
Suppressions			
<i>BRCA1</i>	0,85	0,86	16 %
<i>BRCA2</i>	0,85	S. O.	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 %

Les échantillons comportant des modifications de facteur connues pour les amplifications géniques, à l'aide de contrôles synthétiques et de lignées cellulaires pour les suppressions, ont été évalués à l'aide de TruSight Oncology 500 ctDNA v2. Les VNC ont été dilués à trois niveaux de FAV. LDD : modification de facteur $\geq 1,3$ pour l'amplification génique, $\leq 0,6$ pour les suppressions. Notez la forte corrélation entre les modifications de facteur attendue et observée. Les données présentées concernent le séquençage sur NovaSeq 6000 System; des performances similaires ont été observées sur la série NovaSeq X.

Réarrangement de gènes

Les réarrangements de gènes peuvent agir comme des facteurs génomiques du cancer. Leur détection est donc essentielle pour les études visant à comprendre les fondements de la maladie. TruSight Oncology 500 ctDNA v2 détecte et caractérise les réarrangements de gènes indépendamment du partenaire, même lorsqu'ils sont présents à de faibles concentrations (tableau 9).

Tableau 9 : Performance analytique de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 pour les réarrangements de gènes

Fusion	FAV attendue	FAV observée	Taux de détection
<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 %

Les échantillons comportant trois fusions d'ADN connues diluées à des niveaux de FAV allant de 0,2 % à 0,6 % ont été évalués avec TruSight Oncology 500 ctDNA v2. LDD pour les réarrangements de gènes = 0,5 %. L'évaluation basée sur le SNG à l'aide de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 analyse > 2 300 sites d'homopolymères de 6 pb à 7 pb, ce qui permet de réduire les taux d'erreur et le taux de faux positifs potentiels fréquemment détectés dans le séquençage des homopolymères. Les données présentées concernent le séquençage sur le NovaSeq 6000 System; des performances similaires ont été observées sur la série NovaSeq X. FAV, fréquence allélique du variant.

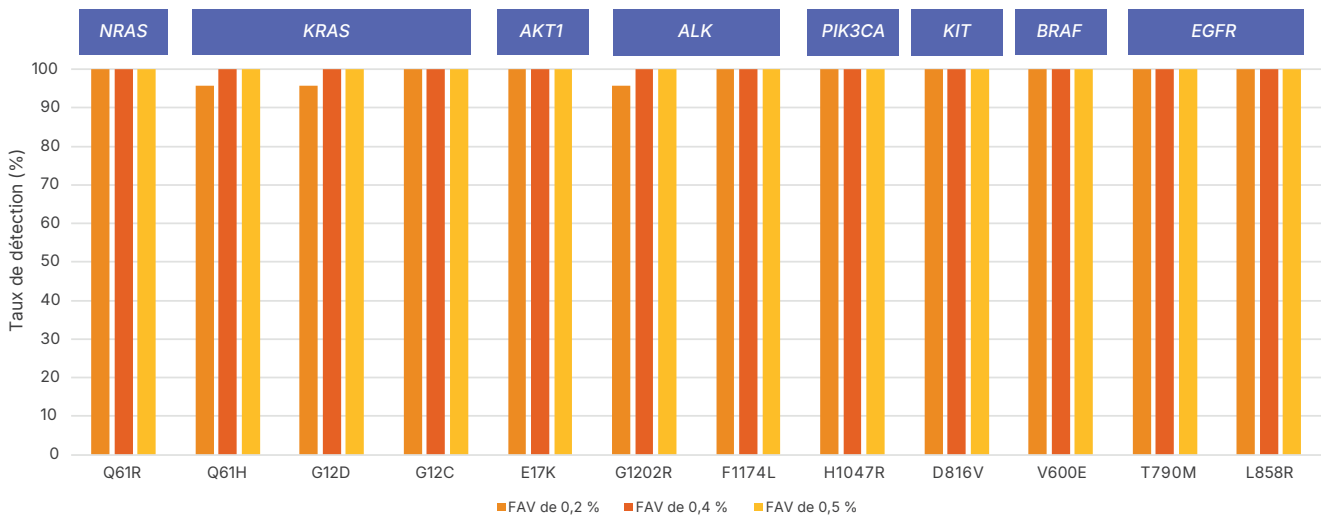


Figure 5 : Haute performance analytique pour les principaux SNV à la LDD (FAV de 0,2 %) : les échantillons de contrôles synthétiques avec une FAV connue pour chaque variant mononucléotidique ont été dilués à des valeurs de FAV allant de 0,20 % à 0,50 % et analysés à l'aide de TruSight Oncology 500 ctDNA v2. Les SNV présents à des niveaux aussi bas que 0,2 % étaient détectables. Les données présentées concernent le séquençage sur le NovaSeq 6000 System; des performances similaires ont été observées sur la série NovaSeq X.

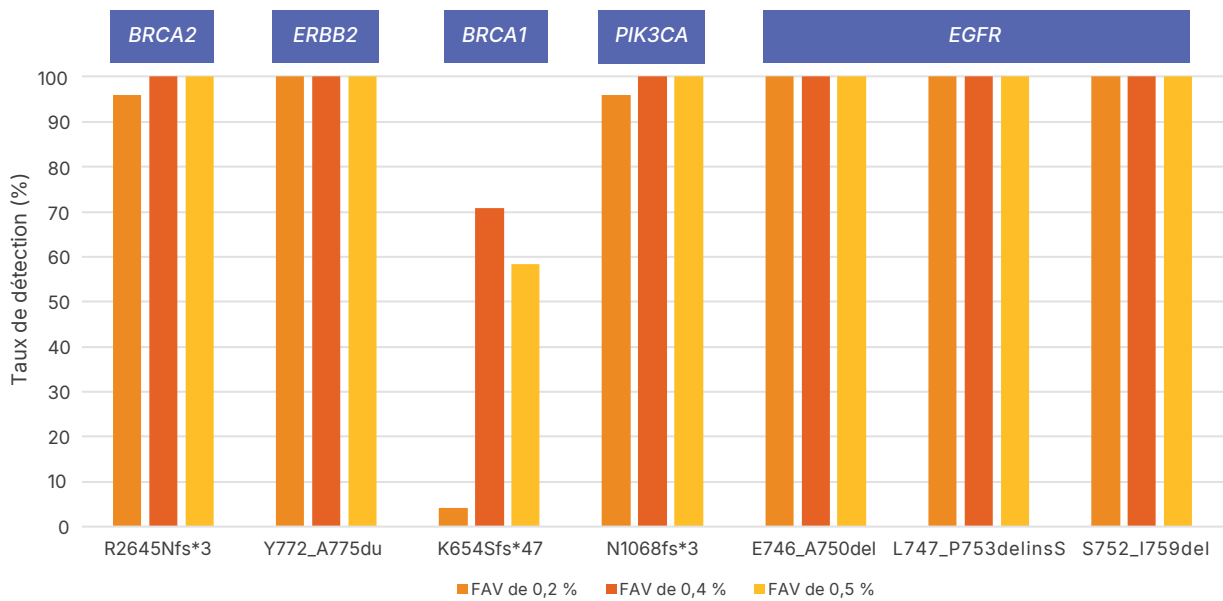


Figure 6 : Haute performance analytique pour les indels à la LDD (FAV de 0,5 %) : les échantillons de contrôles synthétiques avec une FAV connue pour chaque insertion ou suppression ont été dilués à des valeurs de FAV allant de 0,20 % à 0,50 % et analysés à l'aide de TruSight Oncology 500 ctDNA v2. La détection de BRCA1 était plus faible en raison du fait que le variant se trouve dans une région fortement homopolymérique, ce qui a entraîné un niveau de bruit de fond élevé. Les données présentées concernent le séquençage sur le NovaSeq 6000 System; des performances similaires ont été observées sur la série NovaSeq X.

Signatures génétiques en IO : IMS et CMT

La détection de l'IMS et de la CMT repose sur l'analyse de plusieurs locus génomiques. L'évaluation basée sur le SNG à l'aide de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 analyse > 2 300 sites d'homopolymères de 6 pb à 7 pb, ce qui permet de réduire les taux d'erreur et le taux de faux positifs potentiels fréquemment détectés dans le séquençage des homopolymères²⁸. Doté d'une chimie de préparation de bibliothèques précise combinée à une bioinformatique avancée, TruSight Oncology 500 ctDNA v2 permet une détection de l'IMS jusqu'à 0,3 % de fraction tumorale (figure 7).

Obtenir une valeur de bTMB exacte et reproductible à de faibles niveaux de mutation peut être un défi avec des panels plus petits⁷. TruSight Oncology 500 ctDNA v2 combine un contenu génomique complet avec un panel de 1,94 Mb et des algorithmes informatiques sophistiqués pour fournir des estimations de bTMB précises. Le pipeline bioinformatique exclusif DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA applique un filtrage avancé pour les variants associés à l'hématopoïèse clonale et les variants germinaux, ce qui entraîne des flux de travail « tumeur uniquement » et « tumeur/normal » hautement concordants ($R^2 = 0,992$) (figure 8)²⁹.

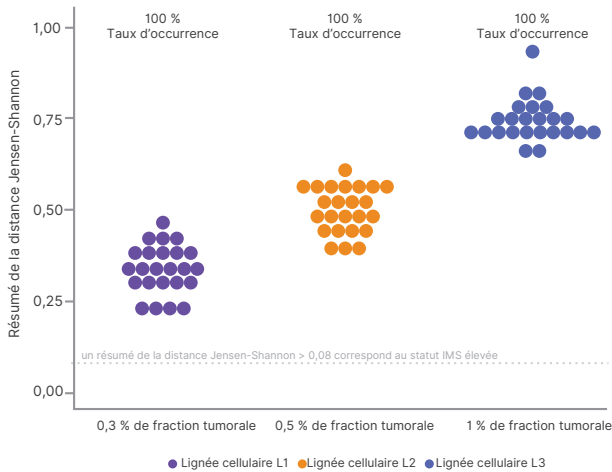


Figure 7 : Performance sensible de l'IMS pour la recherche en IO : fractions tumorales produites en titrant des lignées cellulaires nucléosomiques préparées avec des scores d'IMS élevée précédemment connus titrés sur fond cellulaire de type sauvage. La sensibilité analytique élevée de l'IMS est obtenue grâce au logiciel d'analyse exclusif DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA v2.1 Analysis Software. Plus de 2 300 sites d'homopolymères ont été évalués. Les données présentées concernent le séquençage sur le NovaSeq 6000 System. Des performances similaires ont été observées sur la série NovaSeq X.

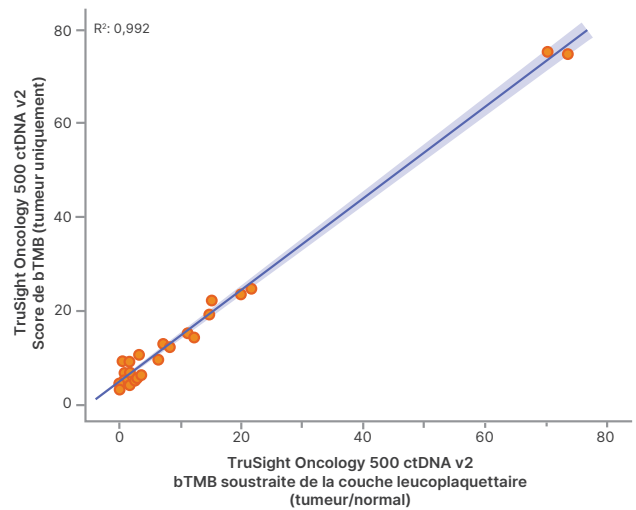


Figure 8 : Forte corrélation des données de bTMB entre les flux de travail d'analyse « tumeur uniquement » et « tumeur/normal » : les scores de bTMB « tumeur uniquement » obtenus avec TruSight Oncology 500 ctDNA v2 avec bioinformatique avancée et un panel suffisamment grand pour détecter la CMT (> 1 Mb) montrent une concordance élevée avec les scores de bTMB obtenus à partir d'un flux de travail « tumeur/normal » apparié à l'aide d'ADNa de plasma et de couche leucoplaquettaire. Les données présentées concernent le séquençage sur le NovaSeq 6000 System; des performances similaires ont été observées sur la série NovaSeq X.

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 v2 comprend :

- Notification de modification avancée : Illumina informe les laboratoires six mois avant que des changements significatifs ne soient apportés à TruSight Oncology 500 ctDNA.
- Certificat d'analyse[‡] : chaque produit TruSight Oncology 500 ctDNA v2 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.
- Durée de conservation prolongée : la durée de conservation minimale garantie pour les réactifs TruSight Oncology 500 ctDNA v2 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.
- Expéditions en lots uniques : disponibles dès maintenant pour les troussees manuelles et à la seconde moitié de 2024 pour les troussees d'automatisation, les expéditions en lots uniques réduisent la charge associée à la validation des lots et aux tests de contrôle de la qualité (CQ) entrants.

Solution intégrée permettant le PGC à partir d'une biopsie liquide

TruSight Oncology 500 ctDNA v2 est un test de recherche multiplex basé sur le SNG qui analyse simultanément des centaines de biomarqueurs liés au cancer à partir de plasma, et ce, conformément aux recommandations et aux recherches actuelles des essais cliniques. Ce test complet détecte de nombreux types de variants dans le sang provenant de 523 gènes impliqués dans différents types de tumeurs et évalue les biomarqueurs émergents et en IO (bTMB, bMSI, *NTRK* et *ROS1*), sans nécessiter les multiples échantillons requis dans le cadre de tests itératifs.

‡ CdA disponible en 2024.

Les améliorations apportées à la chimie et l'augmentation de la compatibilité du système de séquençage ont permis de réduire le temps de traitement global à trois à quatre jours, de réduire l'exigence d'entrée à 20 ng d'ADNa et de réduire la limite de détection à une FAV de 0,2 % (pour les SNV). De plus, le flux de travail basé sur l'automatisation réduit la durée de manipulation et la charge de travail pour le personnel du laboratoire, créant ainsi un laboratoire rationalisé pour une plus grande efficacité. Tirant profit d'un contenu génomique étendu, d'une technologie de séquençage de pointe et d'un logiciel amélioré, TruSight Oncology 500 ctDNA v2 propose une solution intégrée qui permet la réalisation de projets de recherche clinique basés sur le PGC avec une complexité d'analyse et opérationnelle minimale.

En savoir plus

[TruSight Oncology 500 ctDNA v2](#)

[Série NovaSeq X](#)

[NovaSeq 6000 System](#)

[NovaSeq 6000Dx Instrument](#)

[Analyse secondaire DRAGEN](#)

[Illumina Connected Analytics](#)

[Illumina Connected Insights](#)

Renseignements relatifs à la commande –
Trousse de préparation de bibliothèques
(manuelle)

Produit	N° de référence
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 (24 échantillons)	20105899
TruSight Oncology 500 ctDNA v2, pour utilisation avec NovaSeq 6000 S2 (24 échantillons)	20105901
TruSight Oncology 500 ctDNA v2, pour utilisation avec NovaSeq 6000 S4 (24 échantillons)	20105902
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 (24 échantillons) et rapport d'interprétation Velsera	20105905
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 et rapport d'interprétation Velsera, pour utilisation avec NovaSeq 6000 S2 (24 échantillons)	20105907
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 et rapport d'interprétation Velsera, pour utilisation avec NovaSeq 6000 S4 (24 échantillons)	20105908
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 (24 échantillons) et rapport d'interprétation Connected Insights	20105911
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 et rapport d'interprétation Connected Insights, pour utilisation avec NovaSeq 6000 S2 (24 échantillons)	20105913
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 et rapport d'interprétation Connected Insights, pour utilisation avec NovaSeq 6000 S4 (24 échantillons)	20105914

Renseignements relatifs à la commande –
Trousse de préparation de bibliothèques
(automatisée)

Produit	N° de référence
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 for Automation (48 échantillons)	20105900
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit, pour utilisation avec NovaSeq 6000 S2 (48 échantillons)	20105903
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit, pour utilisation avec NovaSeq 6000 S4 (48 échantillons)	20105904
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 for Automation (48 échantillons) et rapport d'interprétation Velsera	20105906
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit et rapport d'interprétation Velsera, pour utilisation avec NovaSeq 6000 S2 (48 échantillons)	20105909
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit et rapport d'interprétation Velsera, pour utilisation avec NovaSeq 6000 S4 (48 échantillons)	20105910
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 for Automation (48 échantillons) et rapport d'interprétation Connected Insights	20105912
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit et rapport d'interprétation Connected Insights, pour utilisation avec NovaSeq 6000 S2 (48 échantillons)	20105915
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit et rapport d'interprétation Connected Insights, pour utilisation avec NovaSeq 6000 S4 (48 échantillons)	20105916

Renseignements relatifs à la commande –
Adaptateurs d'index

Produit	N° de référence
IDT for Illumina UMI DNA/RNA UD Indexes Set A, Ligation (96 index, 96 échantillons)	20034701
IDT for Illumina UMI DNA/RNA UD Indexes Set B, Ligation (96 index, 96 échantillons)	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

Renseignements relatifs à la commande –
Réactifs de séquençage

Produit	N° de référence
NovaSeq 6000 S2 Reagent Kit v1.5 (300 cycles)	20028314
NovaSeq 6000 S4 Reagent Kit v1.5 (300 cycles)	20028312
NovaSeq ^{MC} X Series 1.5B Reagent Kit (300 cycles)	20104705
NovaSeq X Series 10B Reagent Kit (300 cycles)	20085594

Renseignements relatifs à la commande –
Analyse

Produit	N° de référence
Génération de rapports sur les variants au niveau local	
Illumina DRAGEN Server v4	20051343
Illumina DRAGEN Server Installation	20031995
Illumina DRAGEN Server v4 Support Plan	20085832
Field Delivered Applications Training	15032919
Génération de rapports sur les variants dans le nuage	
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
Interprétation des variants	
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
Stockage infonuagique	
Illumina Analytics – 1 iCredit	20042038
Illumina Analytics Starter Pack – 1 000 iCredits	20042039
Illumina Analytics – 5 000 iCredits	20042040
Illumina Analytics – 50 000 iCredits	20042041
Illumina Analytics – 100 000 iCredits	20042042

Références

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 Oncomine 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 [une version corrigée est publiée dans Nat Med. 4 août 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. Publié le 8 mars 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. Publié le 19 avril 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. Bettgowda 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. Publié le 1er juin 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). Consulté le 20 septembre 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). Consulté le 20 septembre 2023.

22. Tempus. Tempus xF. www.tempus.com/oncology/genomic-profiling/xf/. Consulté le 20 septembre 2023.
23. Personal Genome Diagnostics. PGDx elio plasma complete. <https://www.personalgenome.com/products/elio-plasma-complete>. Consulté le 20 septembre 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. Consulté le 20 septembre 2023.
25. Illumina. Sequencing accuracy with Unique Molecular Identifiers. illumina.com/techniques/sequencing/ngs-library-prep/multiplexing/unique-molecular-identifiers.html. Consulté le 20 septembre 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. Données internes. Illumina, Inc. 2024.
28. Beroukhi 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. Consulté le 20 septembre 2023.



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.

M-GL-02196 FRA v4.0