

TruSight™ Whole Genome

Una soluzione convalidata,
scalabile e conforme all'IVDR
per il sequenziamento clinico
dell'intero genoma

- Facilita l'adozione del WGS per i test clinico-diagnostici grazie a un flusso di lavoro completo da DNA a VCF
- Sfrutta la chimica di preparazione delle librerie senza PCR per una distorsione minima e un'uniformità superiore della copertura
- Offre accuratezza e precisione elevate nell'identificazione di varianti per diverse applicazioni cliniche a valle
- Assicura prestazioni ottimali grazie ai controlli analitici, comprese le metriche QC relative a corse e campioni, senza la necessità di controlli esterni dei batch

illumina®

Introduzione

I metodi tradizionali per i test clinici, tra cui PCR e microarray cromosomico, hanno un'utilità limitata per quanto riguarda la capacità di rilevare le varianti genetiche associate alle malattie. I metodi di sequenziamento di nuova generazione (NGS, Next-Generation Sequencing), incluso il sequenziamento dell'intero genoma (WGS, Whole-Genome Sequencing), sono all'avanguardia dell'innovazione nell'ambito dei test clinici genetici e contribuiscono ad accelerare le diagnosi. I test a singolo gene e i pannelli NGS multigene sono però approcci mirati e circoscritti, che potrebbero non rilevare varianti fruibili. Questi metodi, inoltre, possono diventare obsoleti con l'emergere di nuove associazioni tra geni e malattie, costringendo i laboratori clinici a cicli di modifica e convalida di nuovi test, molto dispendiosi in termini di tempo.

Il WGS offre la panoramica più completa del genoma umano e spesso include regioni non coperte da altri metodi. Il WGS senza PCR consente l'analisi simultanea di migliaia di geni associati a malattie note o sospette e la scoperta di nuove varianti causative.

Per i laboratori clinici che incorporano o passano a un saggio genomico conforme al Regolamento sui dispositivi medico-diagnostici *in vitro* (IVDR, *In Vitro* Diagnostic Regulation) dell'Unione europea (UE), Illumina offre TruSight Whole Genome. Si tratta di un saggio che vanta un flusso di lavoro completo nel formato di identificazione DNA-variante (VCF, Variant Call Format) per il WGS clinico (Figura 1). Questa soluzione da laboratorio umido ad analisi secondaria semplifica la convalida dei saggi grazie a controlli interni, identificazione automatica di varianti e studi di convalida di tipo analitico.

Panoramica completa della variazione genomica

Il WGS supera le limitazioni legate ai metodi tradizionali di test a livello di contenuto, offrendo una panoramica base per base praticamente di qualsiasi alterazione genomica nel campione. TruSight Whole Genome ha prestazioni specifiche per le seguenti classi di varianti:

- Varianti a singolo nucleotide (SNV, Single Nucleotide Variant)
- Inserzioni e delezioni (indel)
- Varianti del numero di copie (CNV, Copy Number Variant)
- Corse di omozigosi (ROH, Runs of Homozygosity)
- Espansioni di brevi ripetizioni in tandem (STR, Short Tandem Repeat)
- Varianti del DNA mitocondriale (mtDNA, mitochondrial DNA)

Una soluzione clinica convalidata per il WGS

La convalida analitica del saggio TruSight Whole Genome è stata eseguita in conformità alle linee guida del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) con oltre 450 campioni in più di 150 corse di sequenziamento. Le metriche di controllo qualità (QC, Quality Control) e l'annotazione del livello di confidenza include nell'output di TruSight Whole Genome identificano i campioni inadeguati e consentono di filtrare i dati. Ciò riduce i casi di falsi positivi e falsi negativi e migliora notevolmente le prestazioni (Tabella 1, Figura 2).



Figura 1: flusso di lavoro di TruSight Whole Genome. TruSight Whole Genome offre un flusso di lavoro completo da DNA a VCF, che include la preparazione delle librerie, il sequenziamento sul NovaSeq 6000Dx Instrument e l'analisi con l'app TruSight Whole Genome Analysis.

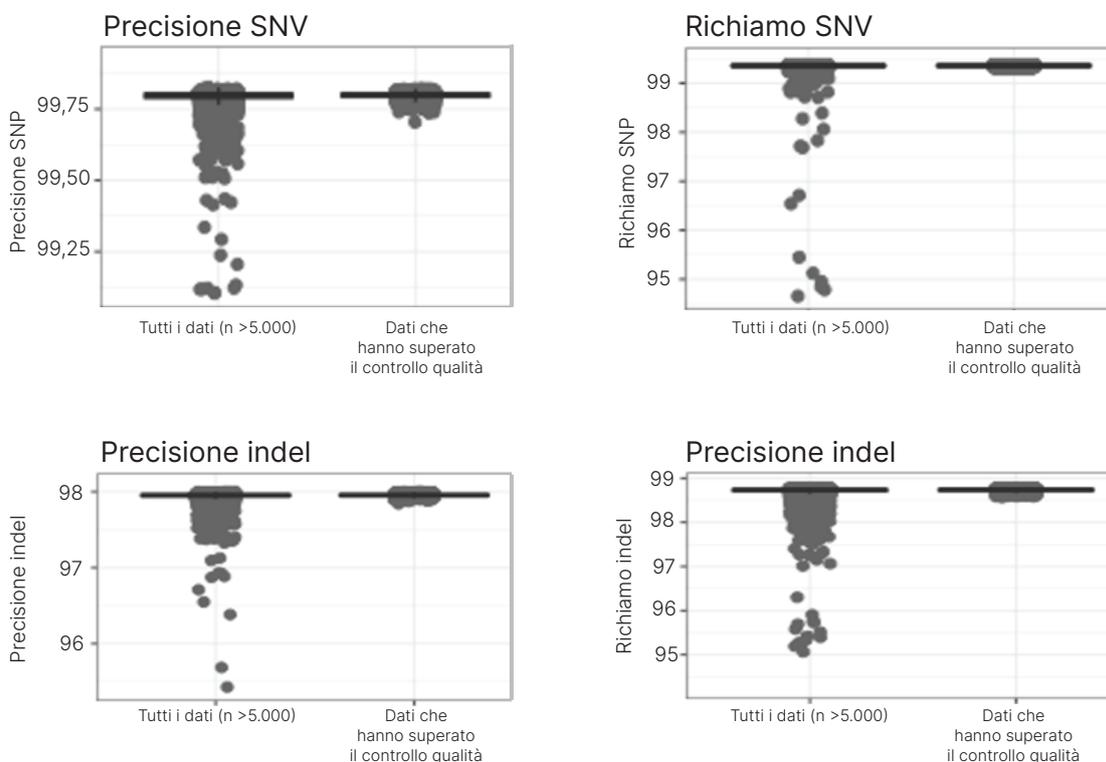


Figura 2: prestazioni assicurate grazie alle metriche integrate per il controllo qualità dell'analisi. Il controllo qualità basato sulle specifiche prestazionali della corsa e del campione e su metriche quali copertura, uniformità e qualità della base, esclude i campioni inadeguati per assicurare prestazioni analitiche ottimali senza la necessità di controlli esterni dei batch.

Tabella 1: il filtraggio delle varianti con confidenza elevata e intermedia migliora le prestazioni

	Senza filtraggio	Confidenza elevata	Confidenza intermedia	Confidenza bassa
SNV	99,79%	99,99%	99,85%	94,36%
Inserzioni ≤5 bp	99,87%	99,99%	99,93%	99,05%
Delezioni ≤5 bp	99,84%	99,97%	99,91%	99,12%
Inserzioni ≤15 bp	99,75%	—	99,96%	99,43%
Delezioni ≤15 bp	99,70%	—	99,93%	99,34%

Flusso di lavoro flessibile e scalabile

TruSight Whole Genome offre un flusso di lavoro flessibile e affidabile (Tabella 2), consentendo di preparare fino a 24 librerie in sole 2,5 ore.

Tabella 2: TruSight Whole Genome in sintesi

Caratteristica	Descrizione
Sistema di sequenziamento	NovaSeq 6000Dx Instrument
Tipi di campioni	gDNA estratto dal sangue intero
Input di DNA richiesto	280 ng
Rendimento dei campioni ^a	6 campioni per cella a flusso S2 Dx e 16 campioni per cella a flusso S4 Dx
Tipi di varianti rilevati	SNV, indel, CNV, ROH, espansioni STR, varianti mtDNA
Durata totale del saggio	Meno di 3 giorni
Durata della preparazione delle librerie	Circa 2,5-4 ore
Durata della corsa di sequenziamento	Circa 44 ore
Cicli di sequenziamento	2 × 150 bp
a. Le doppie celle a flusso possono essere analizzate contemporaneamente per raddoppiare il rendimento.	

Sequenziamento comprovato Illumina

Le librerie preparate vengono analizzate sul NovaSeq™ 6000Dx Instrument, utilizzando i reagenti e le celle a flusso S2 Dx o S4 Dx. Il NovaSeq 6000Dx Instrument è uno strumento diagnostico *in vitro* (IVD, *In Vitro* Diagnostic) con marchio CE che consente ai laboratori clinici di sviluppare ed eseguire saggi IVD basati su NGS.

Analisi automatizzata dei dati

L'analisi viene eseguita automaticamente nella TruSight Whole Genome Analysis App. Utilizzando l'analisi secondaria DRAGEN™, l'app identifica e annota le varianti in modo altamente accurato. L'output è un file VCF del genoma (gVCF, genome VCF), adatto a qualsiasi piattaforma di interpretazione. Con la tecnologia di compressione Original Read Archive (ORA) inclusa, l'archiviazione dei file WGS FASTQ.ORA richiede 5 volte meno spazio rispetto al tradizionale formato FASTQ.GZ.

Prestazioni eccezionali

Identificazione di varianti altamente accurata e ripetibile

Gli studi di convalida analitica dimostrano che le prestazioni di identificazione di varianti di TruSight Whole Genome sono accurate e ripetibili per tutti i tipi di varianti e sottoclassificazioni coperti dal saggio (Tabella 3). L'analisi delle componenti della varianza condotta nell'ambito dello studio di precisione intra-laboratorio ha attribuito in media solo una varianza minima al lotto di reagenti (<1,8%), allo strumento di sequenziamento (1,2%) e al lotto di kit di sequenziamento (9,7%).

Lo studio di accuratezza ha mostrato una bassa incidenza di errori (1,4%) nell'ambito di un test con 496 campioni, 40 preparazioni, 59 corse, 6 lotti di preparazione delle librerie, 4 lotti di materiali di consumo per il sequenziamento, 7 sistemi di sequenziamento e 8 operatori.

Tabella 3: prestazioni di TruSight Whole Genome nell'identificazione di varianti

Tipo di variante	Sottoclassificazione	Accuratezza analitica			Precisione intra-laboratorio	
		PPA	TPPV	NPA	APA	ANA
SNV	Confidenza elevata	99,4	99,9	99,9	99,9	>99,9
	Confidenza intermedia	94,1	97,7	97,7	98,8	98,8
Indel 1-5 bp	Confidenza elevata	98,6/98,3	99,6/99,5	NA	99,9/99,6	NA
	Confidenza intermedia	96,0/98,4	96,5/98,5	NA	98,8/98,8	NA
Indel 6-15 bp	Confidenza intermedia	97,8/97,7	97,9/97,9	NA	99,2/98,1	NA
Indel 16-31 bp	Confidenza intermedia	98,1/96,0	94,9/91,5	NA	96,8/94,6	NA
CNV	Guadagni >10 kbp	86,6	88,7	>99,9	95,2	>99,9
	Perdite >10 kbp	93,3	91,0	>99,9	95,6	>99,9
ROH	>500 kbp	>99,9	85,5	NA	98,3	NA
SNV di mtDNA		>99,99	99,91	99,24	97,2 ^a	99,9 ^{a,b}
Esp. STR	<i>AR</i>	>99,99	>99,99	>99,99	NA	>99,99 ^b
	<i>ATN1</i>	>99,99	>99,99	>99,99	NA	>99,99 ^b
	<i>ATXN1</i>		>99,99	>99,99	NA	>99,99 ^b
	<i>C9ORF72</i>	>99,99	>99,99	>99,99	NA	>99,99 ^b
	<i>DMPK</i>	>99,99	>99,99	>99,99	NA	>99,99 ^b
	<i>FMR1</i>	>99,99	>99,99	>99,99	>99,99 ^b	>99,99 ^b
	<i>HTT</i>	>99,99	99,49	83,33	>99,99 ^b	99,8 ^b
<i>SMN1</i>	c. Negativo con 840C	>99,99	>99,99	>99,99	>99,99 ^b	>99,99 ^b

a. Risultati basati su miscele artificiali mirate a 1 × LoD (4,75% VAF) per 32-40 siti.

b. I risultati sono riportati come PPC e PNC invece di APA e ANA in caso di confronto con varianti empiriche vere anziché con corsa di caratterizzazione.

PPA (Positive Percent Agreement), percentuale di concordanza positiva; PPC (Percent Positive Call), percentuale di identificazioni positive; TPPV (Technical Positive Predictive Value), valore predittivo tecnico positivo; NPA (Negative Percent Agreement), percentuale di concordanza negativa; PNC (Percent Negative Call), percentuale di identificazioni negative; APA (Average Positive Agreement), media di concordanza positiva; ANA (Average Negative Agreement), media di concordanza negativa; exp (expansions), espansioni; VAF (Variant Allele Frequency), frequenza allelica delle varianti

Per maggiori informazioni sulla caratterizzazione iniziale dei tipi di varianti utilizzati per misurare l'accuratezza, vedere l'insero della confezione di TruSight Whole Genome.

Riepilogo

TruSight Whole Genome è un flusso di lavoro WGS clinico convalidato che consente il rilevamento accurato e ripetibile delle varianti della linea germinale. Questa soluzione dal DNA ai dati facilita l'adozione semplificando il processo di sviluppo di controlli e pipeline bioinformatiche e limitando l'esecuzione di studi di convalida analitica, dispendiosi in termini di costi e di tempo. I file genome.vcf filtrati e annotati che vengono generati dal sistema sono adatti per l'uso in varie tipologie di test clinici a valle della linea germinale.

Maggiori informazioni

[TruSight Whole Genome](#)

[NovaSeq 6000Dx Instrument](#)

[Analisi secondaria DRAGEN](#)

Informazioni per gli ordini

Prodotto	N. di catalogo
TruSight Whole Genome Dx Library Prep with UD Indexes, 24 sample	20093209

Dichiarazione d'uso previsto

TruSight Whole Genome è un dispositivo per la diagnostica qualitativa *in vitro* che esegue il sequenziamento dell'intero genoma e il rilevamento di varianti a singolo nucleotide, inserzioni/delezioni, varianti del numero di copie, corse di omozigosi, espansioni di brevi ripetizioni in tandem e variazioni mitocondriali nel DNA genomico umano estratto dal sangue.

TruSight Whole Genome include TruSight Whole Genome Dx Library Prep with UD Indexes e TruSight Whole Genome Analysis Application Software. Il dispositivo è destinato all'uso con applicazioni compatibili per la linea germinale a valle allo scopo di sviluppare saggi diagnostici *in vitro*, e all'impiego da parte di personale di laboratorio qualificato e sviluppatori di saggi.

TruSight Whole Genome è destinato all'uso sul NovaSeq 6000Dx Instrument.



Numero verde 1.800.809.4566 (U.S.A.) | Tel. +1.858.202.4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2024 Illumina, Inc. Tutti i diritti riservati. Tutti i marchi di fabbrica sono di proprietà di Illumina, Inc. o dei rispettivi proprietari.
Per informazioni specifiche sui marchi di fabbrica, visitare la pagina web www.illumina.com/company/legal.html.
M-EMEA-01012 ITA v1.0