

# TruSight<sup>MC</sup> 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.
- 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.

---

\* Des trousseaux et des méthodes propices à l'automatisation seront disponibles en 2024.

## PGC et biopsie liquide

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<sup>1,2</sup>. 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 chauds<sup>3-6</sup>. 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 IO telles que la charge mutationnelle tumorale (CMT) qui nécessitent de grands panels de SNG (> 1 Mb) pour une identification précise<sup>7,8</sup>.

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). Dans certains cas, cependant, la quantité de tissus peut ne pas être suffisante (cela peut se produire dans jusqu'à 25 % des cas<sup>9</sup>), 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 peut fournir

des renseignements sur le contexte génomique de la tumeur. 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);
- permet l'accès à l'ADN tumoral circulant (ADNtc) qui peut représenter des clones de plusieurs tumeurs ou même de la même tumeur<sup>10</sup>, surmontant les biais d'échantillonnage inhérents à la biopsie tumorale et élargissant la capacité d'identifier davantage d'altérations<sup>10-13</sup>;
- est de plus en plus incluse dans les directives professionnelles (> 12 maladies) comme méthode d'obtention d'échantillons pour le profilage moléculaire<sup>14-16</sup>.

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'ADNa. Le test TruSight Oncology 500 ctDNA<sup>17</sup> 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 offre des améliorations de la chimie et du flux de travail qui augmentent la sensibilité et raccourcissent le temps de réponse (tableau 1, tableau 2, 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.

## La valeur de l'ADNtc pour le PGC

Les tumeurs libèrent de l'ADN dans le sang périphérique lors de l'apoptose ou de la nécrose, où il circule en tant que fraction de l'ADN acellulaire (ADNa) total<sup>18</sup>. L'ADNtc a été détecté à tous les stades de la progression du cancer et dans plusieurs types de tumeurs solides<sup>18</sup>, notamment les cancers du poumon, du sein, des ovaires et colorectaux. 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 %<sup>11,12,19</sup> l'identification de mutations pertinentes sur le plan clinique. En outre, des études sur le CPNPC ont révélé que les analyses de l'ADNa concordent fortement avec les analyses tissulaires<sup>12</sup>.

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

- un accès facile à l'échantillon par une procédure de prélèvement sanguin non effractive<sup>20</sup>;
- l'obtention de données temporelles et spatiales sur l'hétérogénéité inter et intratumorale<sup>20</sup>;
- la répétition de l'analyse pour évaluer la sélection clonale.

Tableau 1: 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

IMU, identifiant moléculaire unique


 En savoir plus sur les [identifiants moléculaires uniques \(IMU\)](#).

Tableau 2: TruSight Oncology ctDNA v2 en bref

Paramètre	Caractéristique
Système	NovaSeq 6000 System Instrument NovaSeq 6000Dx (mode RUO) <sup>a</sup> NovaSeq X Sequencing System <sup>a</sup>
Débit d'échantillons	8, 24 ou 48
Tailles des trousse de préparation des librairies	24 échantillons (manuel) 48 échantillons (automatisé)
Tailles des lots de séquençage	8, 24 ou 48 échantillons
Capacité d'automatisation	Méthodes qualifiées d'Illumina disponibles pour Hamilton Microlab STAR <sup>a</sup>
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) <sup>b</sup>
Durée totale du test	< 4 jours de la préparation de librairies au rapport de variants
Durée de manipulation	8 à 24 échantillons (manuel) : ~ 2,5 h 48 échantillons (automatisé) : À déterminer <sup>c</sup>
Temps de préparation des librairies	8 à 24 échantillons (manuel) : < 8,5 h 48 échantillons (automatisé) : À déterminer <sup>c</sup>
Durée de l'analyse de séquençage	8 échantillons : 36 h (Flow Cell S2) 24 échantillons : 44 h (1 × Flow Cell S4) 48 échantillons : 44 h (2 × Flow Cell S4)
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 : À déterminer <sup>c</sup>

a. Disponible en 2024.

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

c. À déterminer. Disponible en 2024.

Tableau 3: Performance de TruSight Oncology ctDNA v2

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 $\geq 1,3$ pour l'amplification génique Modification de facteur $\leq 0,6$ pour la suppression des gènes $\geq 0,3$ % de fraction tumorale pour l'IMS
Sensibilité analytique (à la LDD)	$\geq 90$ % (à la LDD de la FAV de 0,2 % pour les SNV) $\geq 95$ % (à la LDD de la FAV de 0,2 % pour les points chauds de SNV) $\geq 95$ % (à la LDD de la FAV de 0,5 % pour tous les autres types de variants)
Spécificité analytique	$\geq 99,999$ %

## 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

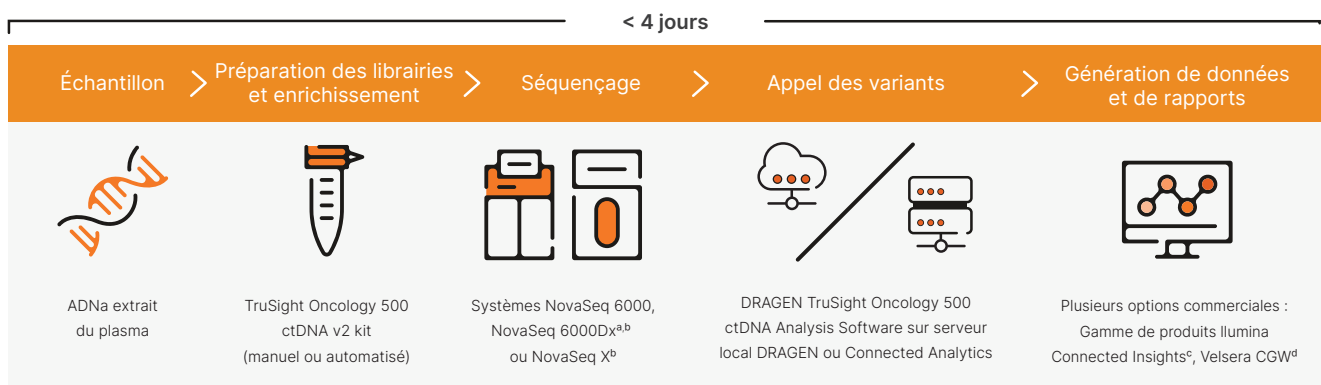


Figure 2 : Flux de travail de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 : TruSight Oncology 500 ctDNA v2 s'intègre aux flux de travail des laboratoires actuels, passant de l'ADNa à un rapport de variants en moins de quatre jours. DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software peut fonctionner sur un serveur local DRAGEN ou dans le nuage via Illumina Connected Analytics. a. NovaSeq 6000Dx en mode RUO. b. Disponibles en 2024. c. 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. d. Velsera était auparavant connue sous le nom de Pierian. D'autres options commerciales sont disponibles.

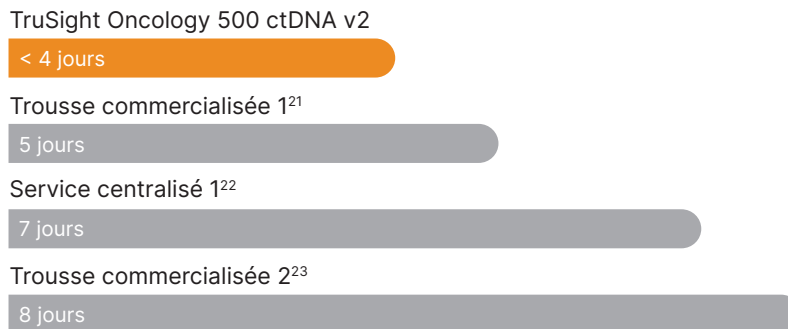


Figure 3 : Durée de traitement raccourcie avec TruSight Oncology 500 ctDNA v2 : comparaison du temps nécessaire pour passer de l'échantillon au rapport pour les tests de PGC à partir d'une biopsie liquide qui comprennent les biomarqueurs en IO de bMSI et de bTMB.

## 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).

### 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)<sup>24</sup> 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.

## 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. Illumina proposera des trousse de préparation de bibliothèques propices à l'automatisation qui réduisent les déchets de réactifs, garantissant une quantité suffisante de réactifs disponibles pour préparer 48 bibliothèques et inclure le volume mort requis pour le robot. 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, ce qui permet aux laboratoires d'économiser sur les coûts de main-d'œuvre et d'améliorer leur efficacité<sup>26</sup>.

## Séquençage puissant

Les bibliothèques TruSight Oncology 500 ctDNA v2 sont séquencées sur NovaSeq 6000 Sequencing System, l'instrument NovaSeq 6000Dx (mode RUO) et NovaSeq X Sequencing System† à des profondeurs élevées (400 millions de lectures par échantillon à ~ 35 000×) 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 5).

\* Méthode qualifiée d'Illumina pour l'automatisation disponible en 2024.

† Séquençage sur les systèmes NovaSeq 6000 Dx et NovaSeq X disponible en 2024.

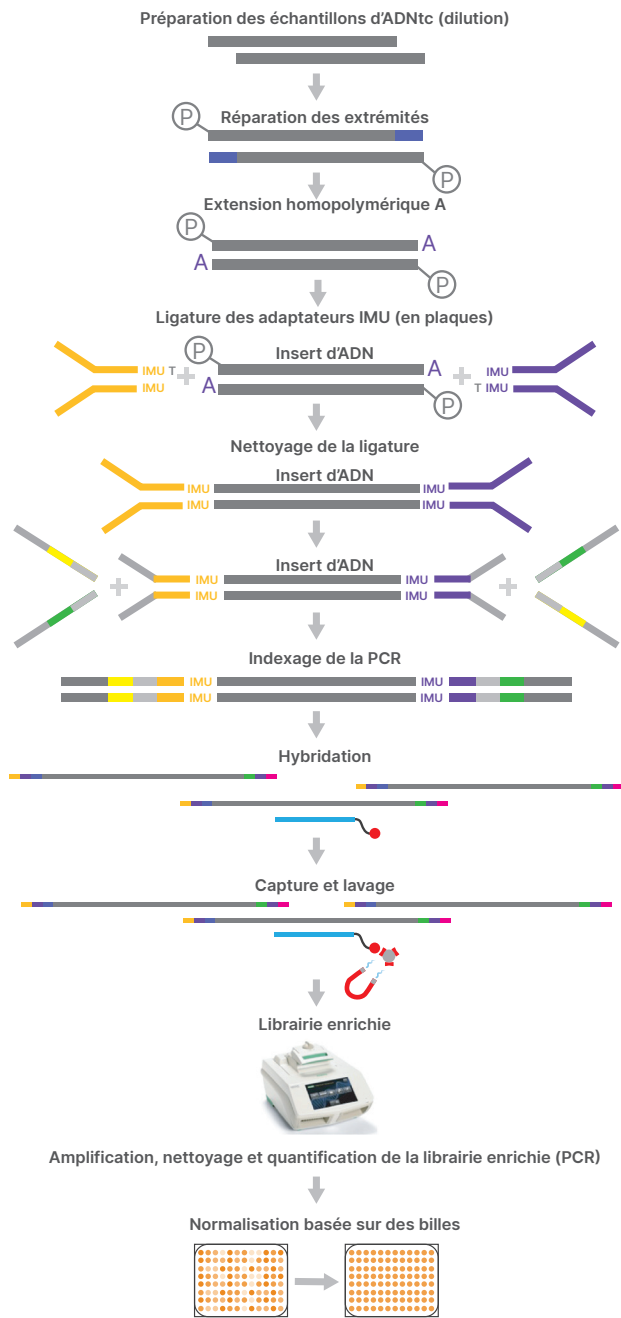


Figure 4 : Préparation de bibliothèques par hybridation/capture basée sur les IMU : l'enrichissement ciblé utilise des sondes qui sont suffisamment grandes pour conférer une spécificité de liaison élevée, mais aussi pour permettre l'hybridation de cibles contenant des mutations. Les réactifs IMU réduisent les taux d'erreur, ce qui augmente la spécificité analytique et produit des appels de variants hautement fiables<sup>25</sup>.

Tableau 5: Détection précise des biomarqueurs de bas niveau

Type de variant	Sensibilité analytique <sup>a</sup>	Spécificité analytique <sup>b</sup>
Petits variants nucléotidiques (FAV $\geq 0,2\%$ )	$\geq 90\%$	$\geq 99,9994\%$
Variants nucléotidiques multiples (FAV $\geq 0,5\%$ )	$\geq 90\%$	$\geq 95\%$
Insertions/suppressions (FAV $\geq 0,5\%$ )	$\geq 90\%$	$\geq 95\%$
Amplifications géniques (modification de facteur $\geq 1,3$ )	$\geq 95\%$	$\geq 95\%$
Suppression des gènes (modification de facteur $\leq 0,6$ )	$\geq 95\%$	$\geq 95\%$
Réarrangement de gènes ( $\geq 0,5\%$ )	$\geq 95\%$	$\geq 95\%$
Détection élevée d'IMS ( $\geq 0,3\%$ de fraction tumorale)	$\geq 95\%$	$\geq 95\%$

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

## Analyse précise et accélérée

### Appel de variants complet et efficace

Le pipeline DRAGEN<sup>MC</sup> 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 une plateforme infonuagique de génomique sécurisée pour faire évoluer l'analyse secondaire sans devoir acquérir et entretenir une infrastructure locale<sup>27</sup>. Les améliorations apportées au matériel et au logiciel DRAGEN permettent de diminuer la durée d'analyse des données d'environ 85 % (tableau 6).

Tableau 6: 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 <sup>a</sup>	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<sup>‡</sup>, Velsera Clinical Genomics Workspace<sup>§</sup> et des applications tierces peuvent être utilisées.

‡ 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.

§ Velsera était auparavant connue sous le nom de Pierian.

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.

### 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).

### VNC

Les changements du nombre de copies dans plusieurs types de gènes et de tumeurs ont été associés à la tumorigénèse<sup>27</sup>. 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 7).



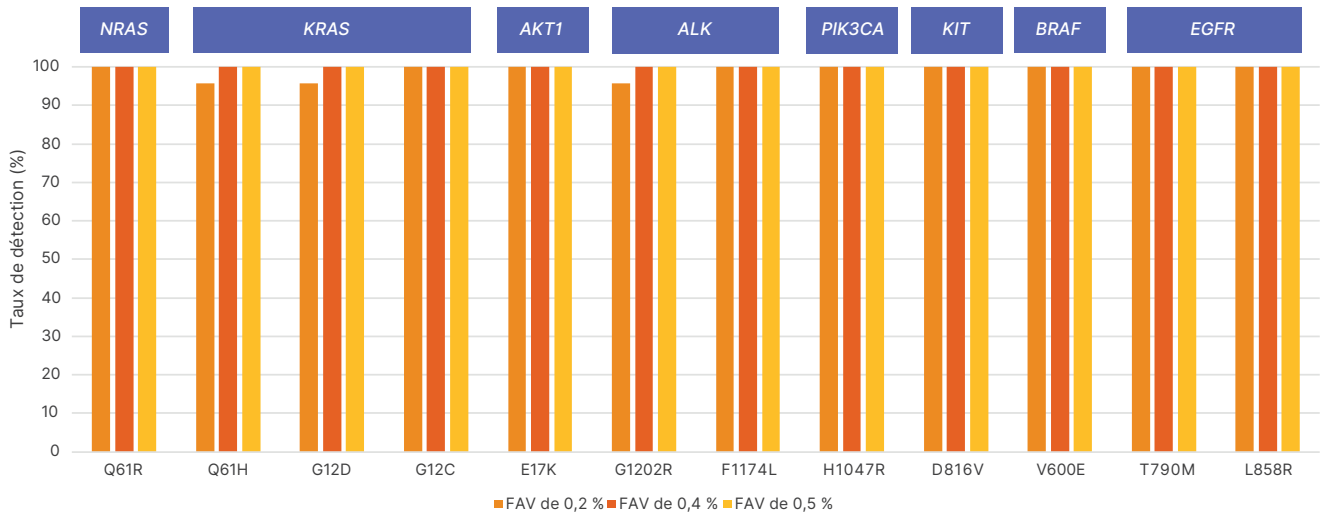


Figure 5 : Haute performance analytique pour les principaux SNV à la LDD (FAV de 0,2 %) : les échantillons de contrôles synthétiques avec une FAV connue pour chaque variant mononucléotidique ont été dilués à des valeurs de FAV allant de 0,20 % à 0,50 % et analysés à l'aide de TruSight Oncology 500 ctDNA v2. Les SNV présents à des niveaux aussi bas que 0,2 % étaient détectables.



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.



Tableau 7: Performance analytique de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 pour les VNC

Gène	Modification de facteur attendue	Modification de facteur observée	Taux de détection
<b>Amplifications</b>			
<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
<b>Suppressions</b>			
<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.

## 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 8).

Tableau 8: 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. FAV, fréquence allélique du variant

## 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 homopolymères<sup>28</sup>. 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).

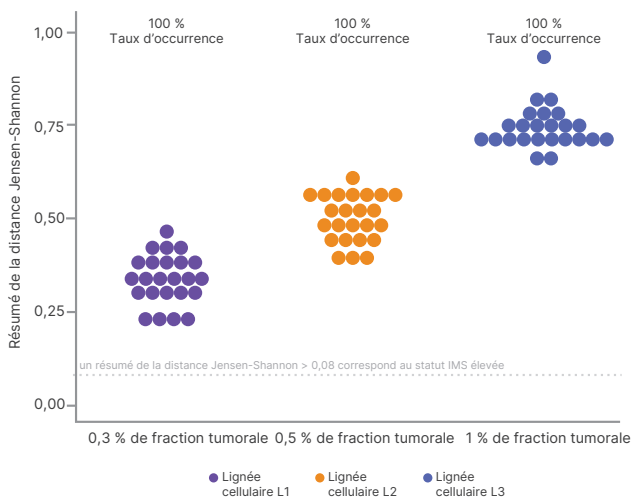


Figure 7 : Performance sensible de l'IMS pour la recherche en IO : fractions tumorales produites en titrant des lignées cellulaires nucléosomiques préparées avec des scores d'IMS élevée précédemment connus titrés sur fond cellulaire de type sauvage. La sensibilité analytique élevée de l'IMS est obtenue 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.

Obtenir une valeur de bTMB exacte et reproductible à de faibles niveaux de mutation peut être un défi avec des panels plus petits<sup>7</sup>. 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)<sup>28</sup>.

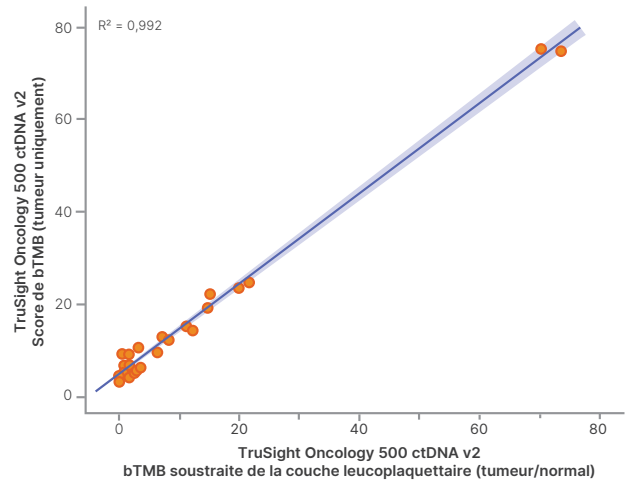


Figure 8 : Forte corrélation des données de bTMB entre les flux de travail d'analyse « tumeur uniquement » et « tumeur/normal » : les scores de bTMB « tumeur uniquement » obtenus avec TruSight Oncology 500 ctDNA v2 avec bioinformatique avancée et un panel suffisamment grand pour détecter la CMT (> 1 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.

## 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<sup>¶</sup> : 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.

¶ CdA disponible en 2024.

## 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.

Les améliorations apportées à la chimie ont permis de réduire le temps de traitement global à moins de 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](#)

[NovaSeq 6000 System](#)

[Analyse secondaire DRAGEN](#)

[Illumina Connected Analytics](#)

[Illumina Connected Insights](#)

## Renseignements relatifs à la commande – Trousses 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	Prochainement
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 et rapport d'interprétation Connected Insights, pour utilisation avec NovaSeq 6000 S2 (24 échantillons)	Prochainement
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 et rapport d'interprétation Connected Insights, pour utilisation avec NovaSeq 6000 S4 (24 échantillons)	Prochainement

\*\* Flux de travail basé sur l'automatisation disponible en 2024.

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	Prochainement
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit et rapport d'interprétation Connected Insights, pour utilisation avec NovaSeq 6000 S2 (48 échantillons)	Prochainement
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit et rapport d'interprétation Connected Insights, pour utilisation avec NovaSeq 6000 S4 (48 échantillons)	Prochainement

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

## Renseignements relatifs à la commande – Analyse

Produit	N° de référence
<b>Génération de rapports sur les variants au niveau local</b>	
Illumina DRAGEN Server v4	20051343
Illumina DRAGEN Server Installation	20031995
Illumina DRAGEN Server v4 Support Plan	20085832
Field Delivered Applications Training	15032919
<b>Génération de rapports sur les variants dans le nuage</b>	
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
<b>Interprétation des variants</b>	
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
<b>Stockage infonuagique</b>	
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. 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

11. 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
12. Leigh 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
13. 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
14. 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
15. 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
16. 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
17. 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.
18. 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
19. 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
20. 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
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/](https://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](https://www.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](https://www.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. 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
28. 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](https://www.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](https://www.illumina.com/company/legal.html).  
 M-GL-02196 FRA v2.0