

# TruSight™ Oncology 500 ctDNA v2

Creación rápida y sensible  
de perfiles genómicos  
completos a partir de  
muestras de biopsia líquida

- Detecte biomarcadores presentes con una VAF de hasta el 0,2 % a partir de 20 ng de ADNtc.
- Obtenga resultados completos en <4 días con opciones manuales o automatizadas\*.
- Analice >500 genes y firmas genómicas de inmunooncología (IO) (MSI, TMB) en un ensayo.

---

\* Kits y métodos fácilmente automatizables disponibles en 2024.

**illumina**®

## CGP y biopsia líquida

Comprender la base genómica del cáncer puede ayudar a identificar las alteraciones que impulsan la enfermedad y permitir avances en la medicina de precisión.

Un método para abordar estos estudios oncológicos es la creación de perfiles genómicos completos (CGP, Comprehensive Genomic Profiling). La CGP es una aplicación de la medicina de precisión que aprovecha la secuenciación de nueva generación (NGS, Next-Generation Sequencing) para evaluar una gran variedad de biomarcadores en un único ensayo, utilizando menos muestra y obteniendo los resultados más rápido que con las estrategias de análisis múltiple iterativas.<sup>1,2</sup> Además, las pruebas de CGP pueden identificar más variantes con importancia clínica que las estrategias de análisis convencionales, como las pruebas de un solo gen y los paneles de NGS de puntos de interés.<sup>3-6</sup> Esta capacidad para detectar más variantes cobra importancia a medida que se descubre un mayor número de biomarcadores, incluidas las firmas genómicas de inmunooncología (IO), como la carga mutacional del tumor (TMB, Tumor Mutational Burden) que requieren grandes paneles de NGS (>1 Mb) para una identificación precisa.<sup>7,8</sup>

La estrategia convencional para la CGP implica el uso de muestras de tejido de tumores sólidos, incluidas muestras fijadas en formol y embebidas en parafina (FFPE, Formalin-Fixed Paraffin-Embedded). Sin embargo, en algunos casos, puede que no haya suficiente muestra de tejido (esto puede ocurrir en hasta el 25 % de los casos<sup>9</sup>), el tumor puede ser inaccesible o los resultados de la biopsia de tejido pueden retrasarse demasiado.

En estos casos, la realización de la CGP con ADN tumoral circulante (ADNtc) de una biopsia líquida puede proporcionar información sobre el panorama genómico del tumor. La biopsia líquida:

- Proporciona una estrategia no invasiva para obtener ADN extracelular circulante (ADNec), que incluye ADNtc, del plasma sanguíneo para la creación de perfiles tumorales (figura 1).
- Permite acceder al ADN tumoral circulante (ADNtc) que puede representar clones de múltiples tumores o incluso del mismo tumor,<sup>10</sup> superando el sesgo de muestreo inherente presente con la biopsia tumoral y ampliando la capacidad para identificar más alteraciones.<sup>10-13</sup>
- Se incluye cada vez más en las directrices profesionales (>12 enfermedades) como método para obtener muestras para la creación de perfiles moleculares.<sup>14-16</sup>

A fin de aprovechar las ventajas de la biopsia líquida, es fundamental usar un ensayo analítico que sea muy sensible y específico y que permita detectar mutaciones somáticas presentes con baja frecuencia en el ADNec. El ensayo TruSight Oncology 500 ctDNA original<sup>17</sup> superó este desafío, aprovechando la capacidad de la probada tecnología de NGS de Illumina y logrando la alta sensibilidad analítica necesaria para permitir la CGP. Partiendo de este éxito, TruSight Oncology 500 ctDNA v2 ofrece mejoras químicas y del flujo de trabajo que conducen a una mayor sensibilidad y a un tiempo de respuesta más rápido (tabla 1, tabla 2, tabla 3).



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

## El valor del ADNtc para la CGP

Los tumores desprenden ADN en la sangre periférica tras la apoptosis o la necrosis, donde circula como una fracción del ADN extracelular circulante (ADNec) total.<sup>18</sup> El ADNtc se ha detectado en todas las etapas de progresión del cáncer y en múltiples tipos de tumores sólidos,<sup>18</sup> incluidos los cánceres pulmonares, mamarios, colorrectales y ováricos. En el caso de determinadas enfermedades, como el CPNM, la adición del análisis de CGP a partir de biopsia líquida al análisis de tejidos puede aumentar la identificación de mutaciones de importancia clínica en un 15 %-48 %.<sup>11,12,19</sup> Además, los estudios de cáncer de pulmón no microcítico han revelado que los análisis de ADNec tienen una alta concordancia con los análisis basados en tejidos.<sup>12</sup>

El uso de ADNtc para la CGP tiene varias ventajas:

- Acceder a la muestra fácilmente mediante un procedimiento de extracción de sangre mínimamente invasivo.<sup>20</sup>
- Obtener información temporal y espacial sobre la heterogeneidad intratumoral e intertumoral.<sup>20</sup>
- Repetir el análisis para evaluar la selección clonal.

Tabla 1: Avances con TruSight Oncology ctDNA v2

Ventaja	TruSight Oncology 500 ctDNA v2	TruSight Oncology 500 ctDNA (original)
Sensibilidad del ensayo mejorada	Pasos de reparación de extremos y adición de cola de A separados	Reparación de extremos y adición de cola de A combinadas
Flujo de trabajo más optimizado y mejor experiencia del usuario	Índices/UMI basados en placas	Índices/UMI basados en tubos
Flujo de trabajo más rápido en un solo día	Etapa única de hibridación/captura	Dos etapas de hibridación y captura
Mayor flexibilidad	192 índices	16 índices

UMI: identificador molecular único



Más información sobre los UMI.

Tabla 2: Información básica de TruSight Oncology ctDNA v2

Parámetro	Especificación
Sistema	NovaSeq 6000 System NovaSeq 6000Dx Instrument (modo RUO) <sup>a</sup> NovaSeq X Sequencing System <sup>a</sup>
Productividad de muestras	8, 24 o 48
Tamaños de los kits de preparación de librerías	24 muestras (manual) 48 muestras (automatizado):
Tamaños de lotes de secuenciación	8, 24 o 48 muestras
Capacidad de automatización	Métodos Illumina Qualified disponibles para Hamilton Microlab STAR <sup>a</sup>
Tamaño de panel	1,94 Mb para ADN
Contenido del panel	523 genes para variantes pequeñas 59 genes para CNV 23 genes para reordenaciones de genes MSI (>2300 locus) TMB (>1 Mb)
Tipo de muestra	ADNec obtenido de la sangre
Cantidad necesaria de entrada de ADN	20 ng de ADNec (posible con 5-30 ng) <sup>b</sup>
Duración total del ensayo	<4 días desde la preparación de librerías hasta la generación del informe de variantes
Tiempo de participación activa	De 8 a 24 muestras (manual): aprox. 2,5 h 48 muestras (automatizado): PD <sup>c</sup>
Tiempo de preparación de librerías	De 8 a 24 muestras (manual): menos de 8,5 h 48 muestras (automatizado): PD <sup>c</sup>
Duración del experimento de secuenciación	8 muestras: 36 h (celda de flujo S2) 24 muestras: 44 h (1 × celda de flujo S4) 48 muestras: 44 h (2 × celda de flujo S4)
Longitud de lectura del experimento de secuenciación	2 × 151 pb
Cobertura de secuenciación	35 000×
Tiempo de análisis de variantes	8 muestras: 9-12 h 24 muestras: 20-24 h 48 muestras: PD <sup>c</sup>

a. Disponible en 2024.

b. Se recomienda la cuantificación con los sistemas Agilent TapeStation o Fragment Analyzer.

c. Por determinar. Disponible en 2024.

Tabla 3: Rendimiento de TruSight Oncology ctDNA v2

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

Los biomarcadores comprenden variantes de nucleótido único (SNV, Single-Nucleotide Variants), variantes de nucleótidos múltiples (MNV, Multiple-Nucleotide Variants), inserciones/deleciones (indels), variantes de número de copias (CNV, Copy-Number Variants), reordenaciones de genes y firmas genómicas complejas de IO, como la inestabilidad de microsatélites en sangre (bMSI, blood-based Microsatellite Instability) y la TMB en sangre (bTMB, blood-based TMB) (tabla 4).



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

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

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

## Contenido exhaustivo

El contenido de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 se ha diseñado con la ayuda de autoridades reconocidas en la comunidad oncológica e incluye biomarcadores actuales y emergentes, con una cobertura exhaustiva de los genes implicados en las guías clave y en ensayos clínicos de varios tipos de tumores. El diseño de la sonda del panel captura reordenaciones de genes tanto conocidas como novedosas e incluye 523 genes para detectar variantes con probabilidad de desempeñar un papel en la carcinogénesis ahora y en el futuro.

### Menos de 4 días



Figura 2: Flujo de trabajo de TruSight Oncology 500 ctDNA v2. El ensayo TruSight Oncology 500 ctDNA v2 se integra en los flujos de trabajo actuales del laboratorio, permitiendo pasar del ADNec al informe de variantes en cinco días. DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software se ejecuta localmente en DRAGEN Server o en la versión en la nube mediante Illumina Connected Analytics. a. NovaSeq 6000Dx en modo RUO. b. Disponible en 2024. c. Disponible en algunos países. La línea de productos Illumina Connected Insights admite el análisis terciario definido por el usuario a través de llamadas API a fuentes de conocimiento de terceros. d. Velsera se conocía anteriormente como Pierian. Hay otras opciones comerciales disponibles.

**TruSight Oncology 500 ctDNA v2**

Menos de 4 días

**Kit distribuido 1<sup>21</sup>**

5 días

**Servicio centralizado 1<sup>22</sup>**

7 días

**Kit distribuido 2<sup>23</sup>**

8 días

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

## Flujo de trabajo integrado y rápido

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

### Preparación optimizada de librerías

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

## Flujo de trabajo con capacidad de automatización

TruSight Oncology 500 ctDNA v2 ofrece opciones manuales y automatizadas\* para admitir la preparación de librerías flexible. Illumina se ha asociado con Hamilton, un fabricante líder en manipulación de líquidos, para producir un flujo de trabajo totalmente automatizado para los ensayos TruSight Oncology 500 ctDNA v2 en Hamilton Star. Illumina ofrecerá kits de preparación de librerías fácilmente automatizables que reducen los residuos de reactivos, lo que garantiza que haya suficiente reactivo disponible para preparar 48 librerías y adaptarse al volumen muerto necesario para el robot. Con los flujos de trabajo automatizados se consiguen resultados de una calidad tan alta como los obtenidos con los protocolos manuales, a la vez que se reduce el tiempo de participación activa, con el consiguiente ahorro en el coste laboral de laboratorio y el aumento de la eficiencia.<sup>26</sup>

### Secuenciación potente

Las librerías de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 se secuencian en NovaSeq 6000 Sequencing System, NovaSeq 6000Dx Instrument (modo RUO) y NovaSeq X Sequencing System† con una profundidad elevada (400 millones de lecturas por muestra a aprox. 35 000×) para mejorar la sensibilidad. Como resultado, se pueden detectar mutaciones a una frecuencia alélica de variantes (VAF, Variant Allele Frequency) del 0,2 %, en el caso de las SNV, con una sensibilidad analítica de ≥90 % y una especificidad analítica de ≥95 % (tabla 5).

\* Método de automatización Illumina Qualified disponibles en 2024.

† Secuenciación en NovaSeq 6000 Dx System y NovaSeq X System disponible en 2024.

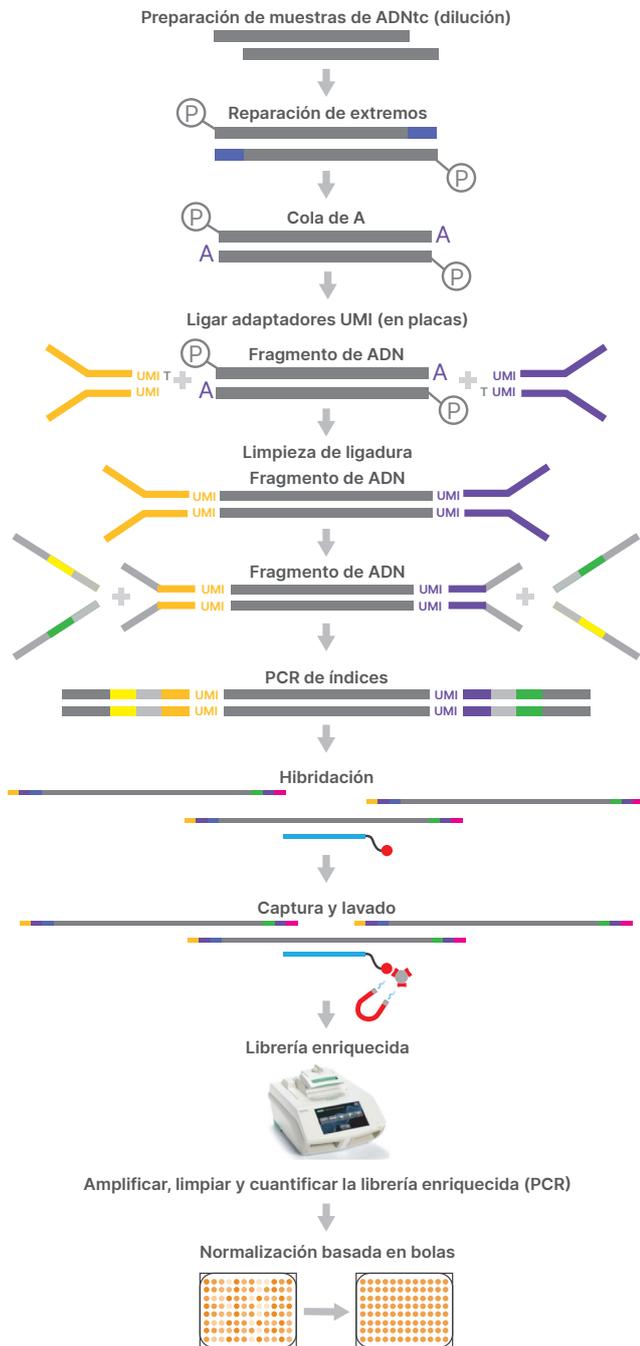


Figura 4: Preparación de librerías por hibridación-captura basado en UMI: El enriquecimiento selectivo utiliza sondas lo suficientemente grandes como para conferir una alta especificidad de unión, pero que aún permiten la hibridación con objetivos que contienen mutaciones. Los reactivos de UMI reducen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

Tabla 5: Detección precisa de biomarcadores de bajo nivel

Tipo de variante	Sensibilidad del análisis <sup>a</sup>	Especificidad del análisis <sup>b</sup>
Variante pequeñas de nucleótidos (≥0,2 % de VAF)	≥90 %	≥99,9994 %
Variante de múltiples nucleótidos (≥0,5 % de VAF)	≥90 %	≥95 %
Inserciones/delecciones (≥0,5 % de VAF)	≥90 %	≥95 %
Amplificaciones génicas (múltiplo de cambio ≥1,3)	≥95 %	≥95 %
Delecciones de genes (múltiplo de cambio ≤0,6)	≥95 %	≥95 %
Reordenaciones de genes (≥0,5 %)	≥95 %	≥95 %
Detección de MSI alta (≥ al 0,3 % de fracción tumoral)	≥95 %	≥95 %

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

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

### Análisis preciso y rápido

#### Llamada de variantes completa y eficiente

El proceso DRAGEN™ TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis utiliza algoritmos bioinformáticos completamente integrados para realizar la alineación de secuencias, la corrección de errores mediante el colapso de la secuencia y, a continuación, la llamada de variantes basándose en los datos sin procesar. Se eliminan las lecturas duplicadas y los errores de secuenciación sin perder la señal de las variantes de baja frecuencia y se obtienen resultados de llamada de variantes de alta sensibilidad.

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

El proceso DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis se ejecuta localmente en Illumina DRAGEN Server v4 o en la nube mediante Illumina Connected Analytics (ICA). ICA ofrece una plataforma genómica segura y basada en la nube para escalar el análisis secundario sin necesidad de adquirir y mantener una infraestructura local.<sup>27</sup> Hardware y software DRAGEN mejorados que reducen el tiempo de análisis de datos en aproximadamente un 85 % (tabla 6).

Tabla 6: Reducción del tiempo de análisis de datos de 24 muestras con una celda de flujo S4

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

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

### Interpretación de datos optimizada

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

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

§ Velsera se conocía anteriormente como Pierian.

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

## Resultados fiables y reproducibles

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

### SNV e indels

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

### CNV

Los cambios en el número de copias en varios genes y tipos de tumores se han asociado a la carcinogénesis.<sup>27</sup> TruSight Oncology 500 ctDNA v2 incluye el análisis de 59 genes asociados a CNV y puede llamar amplificaciones con un límite de detección  $\geq 1,3$  veces para las amplificaciones y  $\leq 0,6$  para las deleciones (tabla 7).



Figura 5: Alto rendimiento analítico para SNV clave en el LoD (0,2 % de VAF). Las muestras de control sintético con una VAF conocida para cada variante de nucleótido único se diluyeron a valores que oscilaban entre el 0,20 % y el 0,50 % de VAF y se analizaron con TruSight Oncology 500 ctDNA v2. Las SNV presentes a niveles bajos de tan solo el 0,2 % eran detectables.

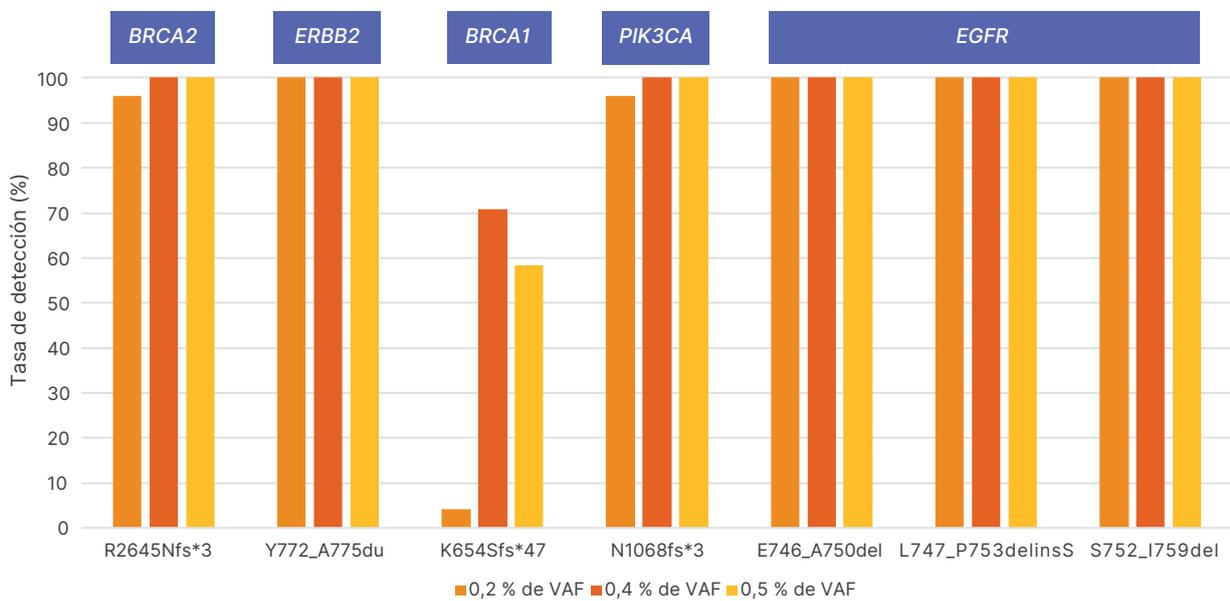


Figura 6: Alto rendimiento analítico para indels en el LoD (0,5 % de VAF). Las muestras de control sintético con una VAF conocida para cada inserción o deleción se diluyeron a valores que oscilaban entre el 0,20 % y el 0,50 % de VAF y se analizaron con TruSight Oncology 500 ctDNA v2. La detección de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

Tabla 7: Rendimiento analítico de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 para CNV

Gen	Múltiplo de cambio previsto	Múltiplo de cambio observado	Tasa de detección
<b>Amplificaciones</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	N/D	0
<b>Deleciones</b>			
<i>BRCA1</i>	0,85	0,86	16 %
<i>BRCA2</i>	0,85	N/D	0
<i>BRCA1</i>	0,80	0,79	100 %
<i>BRCA2</i>	0,80	0,80	100 %
<i>BRCA1</i>	0,70	0,69	100 %
<i>BRCA2</i>	0,70	0,69	100 %

Se evaluaron con TruSight Oncology 500 ctDNA v2 muestras con múltiplos de cambio conocidos para amplificaciones génicas mediante controles sintéticos y líneas celulares para deleciones. Las CNV se diluyeron a tres niveles de VAF. LoD  $\geq 1,3$  de múltiplo de cambio para amplificaciones génicas,  $\leq 0,6$  para deleciones. Cabe señalar la fuerte correlación entre los múltiplos de cambio esperados y observados.

### Reordenaciones de genes

Las reordenaciones de genes pueden actuar como iniciadores genómicos del cáncer, lo que hace que la capacidad de detectarlas sea esencial para los estudios que se centran en comprender la base de la enfermedad. TruSight Oncology 500 ctDNA v2 detecta y caracteriza las reordenaciones de genes independientemente de su pareja, incluso cuando están presentes en concentraciones bajas (tabla 8).

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

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

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

## Firmas génicas de IO: MSI y TMB

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

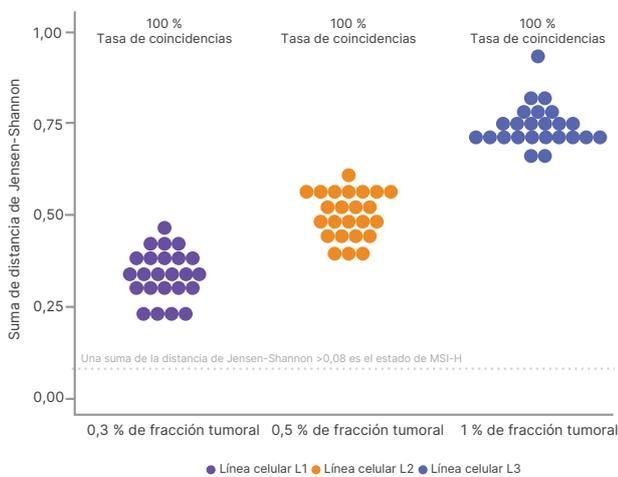


Figura 7: Rendimiento de MSI sensible para la investigación de IO: fracciones tumorales producidas mediante la titulación de líneas celulares preparadas nucleosómicamente con puntuaciones de MSI-H previamente conocidas ajustadas en un fondo de células de tipo natural. La alta sensibilidad analítica de MSI se logra con el exclusivo DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA v2.1 Analysis Software. Se evaluaron más de 2300 centros de homopolímeros.

Obtener un valor de bTMB preciso y reproducible a niveles de mutación bajos puede ser difícil con paneles más pequeños.<sup>7</sup> TruSight Oncology 500 ctDNA v2 combina un contenido genómico completo con un panel de 1,94 Mb y algoritmos informáticos sofisticados para proporcionar estimaciones precisas de bTMB. El proceso bioinformático exclusivo de DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA aplica un filtrado avanzado para variantes de hematopoyesis tanto germinales como clonales, lo que da como resultado flujos de trabajo altamente concordantes solo tumorales y tumorales-normales ( $R^2 = 0,992$ ) (figura 8).<sup>28</sup>

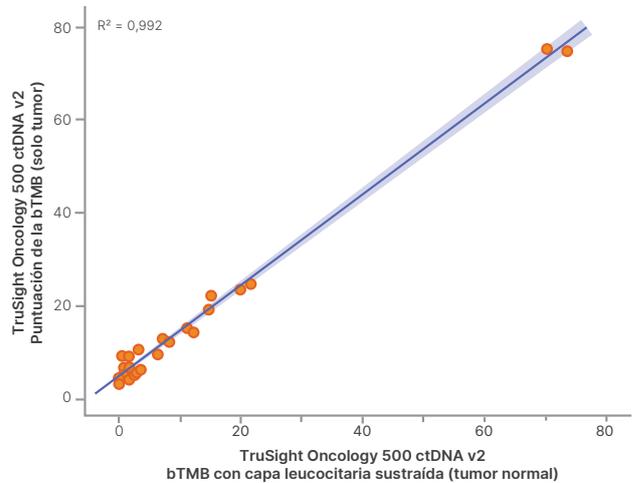


Figura 8: Alta correlación de los datos de bTMB entre los flujos de trabajo de análisis solo del tumor y del tumor-normal: las puntuaciones de bTMB solo del tumor producidas con TruSight Oncology 500 ctDNA v2 con bioinformática avanzada y un panel lo suficientemente grande como para detectar la TMB (>1 Mb) muestran una alta concordancia con las puntuaciones de bTMB producidas a partir de un flujo de trabajo emparejado tumor-normal utilizando plasma y ADNec de la capa leucocitaria.

## Atributos del producto mejorados

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

- Notificación de cambios avanzada: Ilumina notifica a los laboratorios seis meses antes de que se realice cualquier cambio significativo en TruSight Oncology 500 ctDNA.
- Certificado de análisis:<sup>¶</sup> cada producto TruSight Oncology 500 ctDNA v2 se emite con un certificado de análisis (CoA, Certificate Of Analysis) del departamento de garantía de calidad de Ilumina que determina que el producto ha cumplido con sus especificaciones y calidad de lanzamiento del producto predeterminadas.
- Mayor vida útil: la vida útil mínima garantizada de los reactivos TruSight Oncology 500 ctDNA v2 se amplía a seis meses, lo que reduce el riesgo de caducidad del producto y permite a los laboratorios emplear los reactivos según las necesidades de análisis actuales.

¶ CoA disponible en 2024.

## Solución integrada que permite CGP a partir de biopsia líquida

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

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

## Información adicional

[TruSight Oncology 500 ctDNA v2](#)

[NovaSeq 6000 System](#)

[Análisis secundario de DRAGEN](#)

[Illumina Connected Analytics](#)

[Illumina Connected Insights](#)

## Información para pedidos—Kits de preparación de librerías (manual)

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

\*\*Flujo de trabajo compatible con la automatización disponible en 2024.

### Información para pedidos—Kits de preparación de librerías (automatizada)

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

### Información para pedidos—Adaptadores de índices

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

### Información para pedidos—Reactivos de secuenciación

Producto	N.º de catálogo
NovaSeq 6000 S2 Reagent Kit v1.5 (300 cycles)	20028314
NovaSeq 6000 S4 Reagent Kit v1.5 (300 cycles)	20028312

## Información para pedidos—Análisis

Producto	N.º de catálogo
<b>Generación de informes de variantes locales</b>	
Illumina DRAGEN Server v4	20051343
Illumina DRAGEN Server Installation	20031995
Illumina DRAGEN Server v4 Support Plan	20085832
Field Delivered Applications Training	15032919
<b>Generación de informes de variantes basada en la nube</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>Interpretación de variantes</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>Almacenamiento en la nube</b>	
Illumina Analytics – 1 iCredit	20042038
Illumina Analytics Starter Package – 1,000 iCredits	20042039
Illumina Analytics – 5,000 iCredits	20042040
Illumina Analytics – 50,000 iCredits	20042041
Illumina Analytics – 100,000 iCredits	20042042

## Bibliografía

1. Lim C, Tsao MS, Le LW, et al. Biomarker testing and time to treatment decision in patients with advanced nonsmall-cell lung cancer. *Ann Oncol.* 2015;26(7):1415-1421. doi:10.1093/annonc/mdv208
2. Yu TM, Morrison C, Gold EJ, Tradonsky A, Layton AJ. Multiple Biomarker Testing Tissue Consumption and Completion Rates With Single-gene Tests and Investigational Use of OncoPrint Dx Target Test for Advanced Non-Small-cell Lung Cancer: A Single-center Analysis. *Clin Lung Cancer.* 2019;20(1):20-29.e8. doi:10.1016/j.clcc.2018.08.010
3. Reitsma M, Fox J, Borre PV, et al. Effect of a Collaboration Between a Health Plan, Oncology Practice, and Comprehensive Genomic Profiling Company from the Payer Perspective. *J Manag Care Spec Pharm.* 2019;25(5):601-611. doi:10.18553/jmcp.2019.18309
4. Zehir A, Benayed R, Shah RH, et al. Mutational landscape of metastatic cancer revealed from prospective clinical sequencing of 10,000 patients [la corrección publicada aparece en Nat Med. 4 de agosto de 2017;23 (8):1004]. *Nat Med.* 2017;23(6):703-713. doi:10.1038/nm.4333
5. Kopetz S, Mills Shaw KR, Lee JJ, et al. Use of a Targeted Exome Next-Generation Sequencing Panel Offers Therapeutic Opportunity and Clinical Benefit in a Subset of Patients With Advanced Cancers. *JCO Precis Oncol.* 2019;3:PO.18.00213. Fecha de publicación: 8 de marzo de 2019. doi:10.1200/PO.18.00213
6. Drilon A, Wang L, Arcila ME, et al. Broad, Hybrid Capture-Based Next-Generation Sequencing Identifies Actionable Genomic Alterations in Lung Adenocarcinomas Otherwise Negative for Such Alterations by Other Genomic Testing Approaches. *Clin Cancer Res.* 2015;21(16):3631-3639. doi:10.1158/1078-0432.CCR-14-2683
7. Buchhalter I, Rempel E, Endris V, et al. Size matters: Dissecting key parameters for panel-based tumor mutational burden analysis. *Int J Cancer.* 2019;144(4):848-858. doi:10.1002/ijc.31878
8. Chalmers ZR, Connelly CF, Fabrizio D, et al. Analysis of 100,000 human cancer genomes reveals the landscape of tumor mutational burden. *Genome Med.* 2017;9(1):34. Fecha de publicación: 19 de abril de 2017. doi:10.1186/s13073-017-0424-2
9. Hagemann IS, Devarakonda S, Lockwood CM, et al. Clinical next-generation sequencing in patients with non-small cell lung cancer. *Cancer.* 2015;121(4):631-639. doi:10.1002/cncr.29089
10. Rapisuwon S, Vietsch EE, Wellstein A. Circulating biomarkers to monitor cancer progression and treatment. *Comput Struct Biotechnol J.* 2016;14:211-222. Fecha de publicación: 1 de junio de 2016. doi:10.1016/j.csbj.2016.05.004

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. 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
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). Fecha de consulta: 20 de septiembre de 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). Fecha de consulta: 20 de septiembre de 2023.
22. Tempus. Tempus xF. [www.tempus.com/oncology/genomic-profiling/xf/](https://www.tempus.com/oncology/genomic-profiling/xf/). Fecha de consulta: 20 de septiembre de 2023.
23. Personal Genome Diagnostics. PGDx elio plasma complete. <https://www.personalgenome.com/products/elio-plasma-complete>. Fecha de consulta: 20 de septiembre de 2023.
24. Illumina. TruSight Oncology UMI Reagents data sheet. [illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/datasheets/trusight-oncology-umi-reagents-datasheet-1000000050425.pdf](https://www.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/datasheets/trusight-oncology-umi-reagents-datasheet-1000000050425.pdf). Fecha de consulta: 20 de septiembre de 2023.
25. Illumina. Sequencing accuracy with Unique Molecular Identifiers. [illumina.com/techniques/sequencing/ngs-library-prep/multiplexing/unique-molecular-identifiers.html](https://www.illumina.com/techniques/sequencing/ngs-library-prep/multiplexing/unique-molecular-identifiers.html). Fecha de consulta: 20 de septiembre de 2023.
26. Socea JN, Stone VN, Qian X, Gibbs PL, Levinson KJ. Implementing laboratory automation for next-generation sequencing: benefits and challenges for library preparation. *Front Public Health.* 2023;11:1195581. doi:10.3389/fpubh.2023.1195581
27. 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). Fecha de consulta: 20 de septiembre de 2023.



1 800 809 4566 (llamada gratuita, EE. UU.) | tel.: +1 858 202 4566  
 techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2024 Illumina, Inc. Todos los derechos reservados. Todas las marcas comerciales pertenecen a Illumina, Inc. o a sus respectivos propietarios. Si desea consultar información específica sobre las marcas comerciales, consulte [www.illumina.com/company/legal.html](https://www.illumina.com/company/legal.html).  
 M-GL-02196 ESP v2.0