

TruSight^{MC} Whole Genome

Une solution validée, évolutive et conforme au RDIV pour le séquençage clinique du génome entier

- Facilite l'adoption du SGE pour les tests diagnostiques cliniques grâce à un flux de travail complet de l'ADN au VCF
- Tire parti de la chimie de préparation de bibliothèques sans PCR pour un biais minimal et une uniformité de couverture supérieure
- Fournit une définition très précise de l'appel des variants germinaux pour diverses applications cliniques en aval
- Garantit des performances optimales grâce aux contrôles analytiques, notamment les indicateurs de CQ des analyses et des échantillons, sans nécessiter de contrôles de lots externes

illumina^{MD}

Introduction

Les méthodes traditionnelles pour les tests cliniques, y compris la PCR et les puces à ADN chromosomiques, ont une utilité limitée dans leur capacité à détecter les variants génétiques associés à la maladie. Les méthodes de séquençage de nouvelle génération (SNG), notamment le séquençage du génome entier (SGE), sont à l'origine d'avancées importantes dans les tests génétiques cliniques, accélérant ainsi les diagnostics. Cependant, les tests monogéniques et les panels de SNG multigéniques sont des approches ciblées, de portée limitée et qui peuvent potentiellement manquer des variants exploitables. De plus, ces méthodes peuvent s'avérer obsolètes à mesure que de nouvelles associations gène-maladie sont établies, obligeant les laboratoires cliniques à exécuter des cycles chronophages de modification et de validation de nouveaux tests.

Le SGE fournit la vue la plus complète du génome humain et comprend souvent des régions non ciblées par d'autres méthodes. Le SGE sans PCR permet l'analyse simultanée de milliers de gènes avec des associations de maladies connues ou suspectées et la découverte de nouveaux variants étiologiques.

Pour les laboratoires cliniques qui adoptent ou intègrent un test génomique conforme au règlement de l'Union européenne (UE) relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* (RDIV), Illumina propose TruSight Whole Genome. Ce test offre un flux de travail complet de format ADN/appel des variants (VCF) pour le SGE clinique (Figure 1). Cette solution d'analyse humide secondaire à partir des données de laboratoire rationalise la validation des tests grâce à des contrôles internes, à l'appel des variants automatisé et à des études de validation analytique.

Vue complète de la variation génomique

Le SGE surmonte les limites des méthodes de test traditionnelles en matière de contenu en fournissant une vue « base par base » de pratiquement toute altération génomique dans un échantillon. TruSight Whole Genome offre des performances éprouvées pour les classes de variants suivantes :

- Variants mononucléotidiques (SNV)
- Insertions et suppressions (indels)
- Variants du nombre de copies (VNC)
- Régions d'homozygotie (ROH, Runs of homozygosity)
- Expansions de répétitions courtes en tandem (STR, Short tandem repeat)
- Variants de l'ADN mitochondrial (ADNmt)

Une solution de SGE clinique validée

La validation analytique du test TruSight Whole Genome a été effectuée conformément aux directives du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) avec plus de 450 échantillons au cours de > 150 analyses de séquençage. Les indicateurs de contrôle de la qualité (CQ) et l'annotation du niveau de confiance inclus dans le débit de TruSight Whole Genome identifient les échantillons peu performants et permettent de filtrer les données. Cela réduit les appels faux positifs et faux négatifs et améliore considérablement les performances (Tableau 1, Figure 2).

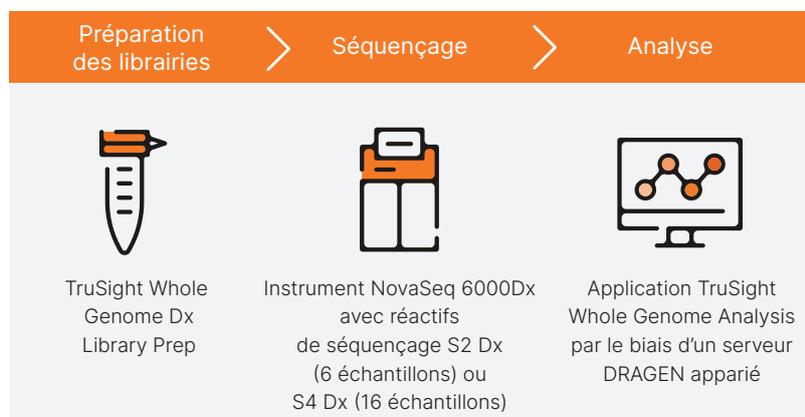


Figure 1 : Flux de travail TruSight Whole Genome : TruSight Whole Genome comprend un flux de travail complet de l'ADN au VCF qui inclut la préparation de bibliothèques, le séquençage sur l'instrument NovaSeq 6000Dx et l'analyse avec l'application TruSight Whole Genome Analysis.

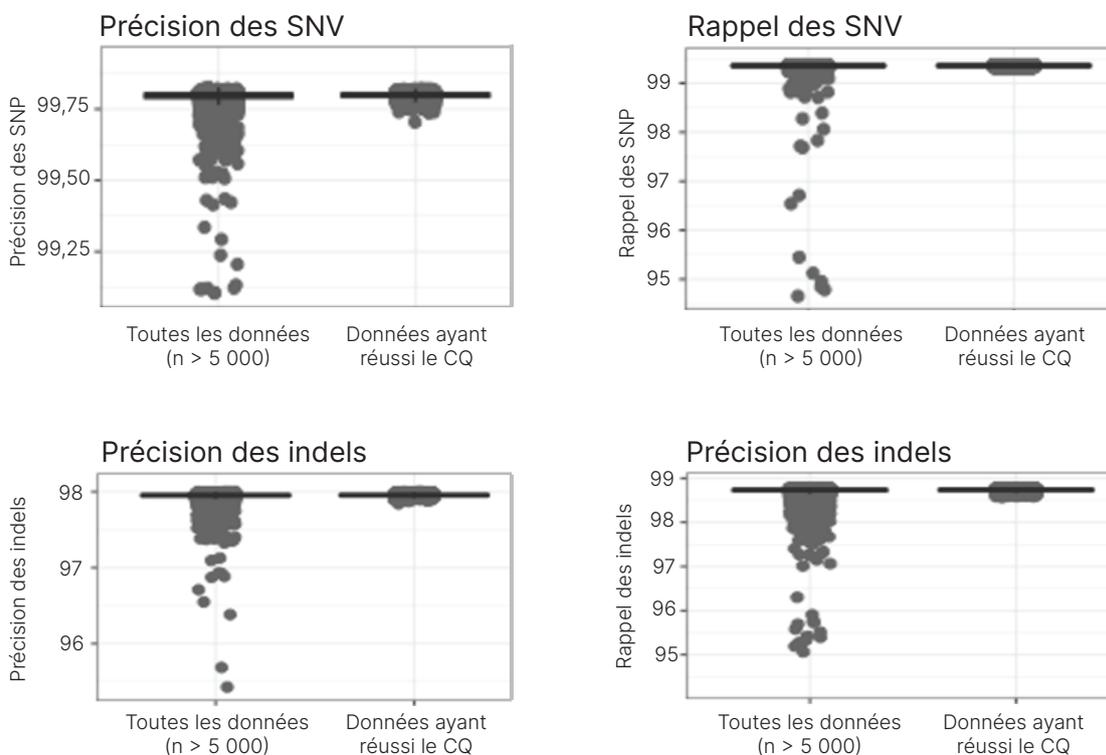


Figure 2 : Les indicateurs de CQ analytique intégrés garantissent la performance : le CQ basé sur les spécifications de performance de l’analyse et des échantillons, les indicateurs, y compris la couverture, l’uniformité et la qualité de la base, filtre les échantillons de mauvaise qualité pour garantir une performance analytique optimale sans nécessiter de contrôles de lots externes.

Tableau 1 : Le filtrage des variants de fiabilité élevée et intermédiaire améliore les performances

	Non filtré	Fiabilité élevée	Fiabilité intermédiaire	Fiabilité réduite
SNV	99,79 %	99,99 %	99,85 %	94,36 %
Insertions ≤ 5 pb	99,87 %	99,99 %	99,93 %	99,05 %
Suppressions ≤ 5 pb	99,84 %	99,97 %	99,91 %	99,12 %
Insertions ≤ 15 pb	99,75 %	—	99,96 %	99,43 %
Suppressions ≤ 15 pb	99,70%	—	99,93 %	99,34%

Flux de travail flexible et évolutif

TruSight Whole Genome offre un flux de travail flexible et fiable ([Tableau 2](#)), en permettant de préparer jusqu'à 24 librairies en seulement 2,5 heures.

Tableau 2 : Aperçu de TruSight Whole Genome

Caractéristique	Description
Système de séquençage	Instrument NovaSeq 6000Dx
Types d'échantillons	ADNg extrait du sang entier
Exigence d'entrée d'ADN	280 ng
Débit d'échantillons ^a	6 échantillons par Flow Cell S2 Dx et 16 échantillons par Flow Cell S4 Dx
Types de variants détectés	SNV, indels, VNC, ROH, expansions de STR, variants d'ADNmt
Durée totale du test	< 3 jours
Temps de préparation des librairies	~ 2,5 à 4 h
Durée de l'analyse de séquençage	~ 44 h
Cycles de séquençage	2 × 150 pb

a. Les doubles Flow Cell peuvent être analysées simultanément pour doubler le débit.

Séquençage éprouvé d'Illumina

Les librairies préparées sont analysées sur l'instrument NovaSeq^{MC} 6000Dx, à l'aide de Flow Cells S2 Dx ou S4 Dx et de réactifs. L'instrument NovaSeq 6000Dx est un instrument de diagnostic *in vitro* (DIV) marqué CE qui permet aux laboratoires cliniques de développer et d'effectuer des tests DIV basés sur le séquençage de nouvelle génération (SNG).

Analyse automatisée des données

L'analyse est effectuée automatiquement dans l'application TruSight Whole Genome Analysis. À l'aide de l'analyse secondaire DRAGEN^{MC}, l'application fournit un appel des variants et une annotation très précis. La sortie est un fichier VCF du génome (gVCF), adapté à toute plateforme d'interprétation. Avec la technologie de compression ORA (Original Read Archive), le stockage des fichiers SGE FASTQ.ORA nécessite 5 fois moins d'espace que le format FASTQ.GZ traditionnel.

Des performances exceptionnelles

Un appel des variants hautement précis et reproductible

Les études de validation analytique montrent que TruSight Whole Genome fournit des performances précises et reproductibles en matière d'appel des variants pour tous les types et sous-classifications de variants couverts par le test ([Tableau 3](#)). L'analyse des composants de variance effectuée dans le cadre de l'étude de précision en laboratoire a attribué en moyenne une variance minimale seulement au lot de réactifs (< 1,8 %), à l'instrument de séquençage (1,2 %) et au lot de trousse de séquençage (9,7 %).

L'étude de précision a montré une faible incidence d'échec (1,4 %) lorsque le test porte sur 496 échantillons, 40 préparations, 59 analyses, 6 lots de préparation de librairies, 4 lots de consommables de séquençage, 7 systèmes de séquençage et 8 opérateurs.

Tableau 3 : Performances d'appel des variants de TruSight Whole Genome

Type de variant	Sous-classification	Précision analytique			Précision au sein du laboratoire	
		CPP	VPPT	CNP	CMP	CNM
SNV	Fiabilité élevée	99,4	99,9	99,9	99,9	> 99,9
	Fiabilité intermédiaire	94,1	97,7	97,7	98,8	98,8
Indels 1 à 5 pb	Fiabilité élevée	98,6/98,3	99,6/99,5	S. O.	99,9/99,6	S. O.
	Fiabilité intermédiaire	96,0/98,4	96,5/98,5	S. O.	98,8/98,8	S. O.
Indels 6 à 15 pb	Fiabilité intermédiaire	97,8/97,7	97,9/97,9	S. O.	99,2/98,1	S. O.
Indels 16 à 31 pb	Fiabilité intermédiaire	98,1/96,0	94,9/91,5	S. O.	96,8/94,6	S. O.
VNC	Gains > 10 kpb	86,6	88,7	> 99,9	95,2	> 99,9
	Pertes > 10 kpb	93,3	91,0	> 99,9	95,6	> 99,9
ROH	> 500 kpb	> 99,9	85,5	S. O.	98,3	S. O.
SNV d'ADNmt		> 99,99	99,91	99,24	97,2 ^a	99,9 ^{a,b}
Exp. de STR	AR	> 99,99	> 99,99	> 99,99	S. O.	> 99,99 ^b
	ATN1	> 99,99	> 99,99	> 99,99	S. O.	> 99,99 ^b
	ATXN1		> 99,99	> 99,99	S. O.	> 99,99 ^b
	C9ORF72	> 99,99	> 99,99	> 99,99	S. O.	> 99,99 ^b
	DMPK	> 99,99	> 99,99	> 99,99	S. O.	> 99,99 ^b
	FMR1	> 99,99	> 99,99	> 99,99	> 99,99 ^b	> 99,99 ^b
	HTT	> 99,99	99,49	83,33	> 99,99 ^b	99,8 ^b
SMN1	c. Négatif par 840C	> 99,99	> 99,99	> 99,99	> 99,99 ^b	> 99,99 ^b

a. Résultats basés sur un mélange artificiel ciblant 1 x LdD (4,75 % de FAV) pour 32 à 40 sites.

b. Les résultats sont rapportés en tant que PAP et CNP au lieu de CMP et CNM lorsque la comparaison est faite avec la vérité de base, par opposition à une analyse de caractérisation.

CPP, concordance positive en pourcentage; PAP, pourcentage d'appels positifs; VPPT, valeur prédictive positive technique; CNP, concordance négative en pourcentage; PAN, pourcentage d'appels négatifs; CPM, concordance positive moyenne; CNM, concordance négative moyenne; exp, expansions; FAV, fréquence allélique de variants Pour de plus amples renseignements sur la caractérisation initiale des types de variants utilisés pour mesurer la précision, consultez la notice d'accompagnement de TruSight Whole Genome.

Résumé

TruSight Whole Genome est un flux de travail SGE clinique validé qui fournit une détection précise et reproductible des variants germinaux. Cette solution de l'ADN aux données facilite l'adoption en rationalisant le processus de développement de contrôles, de pipelines bioinformatiques et de réalisation d'études de validation analytiques coûteuses et chronophages. Les fichiers genome.vcf, filtrés et annotés, générés par le système peuvent être utilisés dans diverses applications de tests cliniques germinaux en aval.

En savoir plus

[TruSight Whole Genome](#)

[Instrument NovaSeq 6000Dx](#)

[Analyse secondaire DRAGEN](#)

Renseignements relatifs à la commande

Produit	N° de référence
TruSight Whole Genome Dx Library Prep with UD Indexes, 24 échantillons	20093209

Déclaration relative à l'utilisation prévue

TruSight Whole Genome est un dispositif qualitatif de diagnostic *in vitro* destiné au séquençage du génome entier et à la détection de variants mononucléotidiques, à l'insertion/la suppression, aux variants de nombre de copies, aux analyses d'homozygotie, aux expansions de répétitions en tandem courtes et aux variations mitochondriales dans l'ADN génomique humain extrait du sang.

TruSight Whole Genome comprend TruSight Whole Genome Dx Library Prep with UD Indexes et TruSight Whole Genome Analysis Application Software. Le dispositif est destiné à être utilisé avec des applications germinales en aval compatibles pour développer des tests de diagnostic *in vitro*, par un personnel de laboratoire qualifié et des développeurs de tests.

TruSight Whole Genome est destiné à être utilisé sur l'instrument NovaSeq 6000Dx.



Numéro sans frais aux États-Unis : + (1) 800 809-4566 | Téléphone : + (1) 858 202-4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2024 Illumina, Inc. Tous droits réservés. Toutes les marques de commerce sont la propriété d'Illumina, Inc. ou de leurs détenteurs respectifs. Pour obtenir des renseignements sur les marques de commerce, consultez la page www.illumina.com/company/legal.html.
 M-EMEA-01012 FRA v1.0