

# TruSight<sup>MC</sup> Oncology 500 ctDNA

Permet un profilage génomique complet à l'interne à partir d'échantillons de biopsie liquide.

### Points forts

- Permet le profilage génomique complet à partir de sang**  
 Permet d'accéder à des variants d'ADN à travers 523 gènes à l'interne, y compris bTMB et bMSI<sup>†</sup>
- Permet une biopsie liquide à l'interne**  
 Permet de tirer profit d'échantillons de plasma sanguin non invasifs comme solution de rechange ou complément aux échantillons de tissus limités
- Permet de produire des résultats dignes de confiance**  
 Permet de réaliser les limites inférieures de détection avec la préparation de bibliothèques par hybridation basée sur les IMU, le séquençage à haute intensité par synthèse avec le NovaSeq<sup>MC</sup> 6000 System et la bioinformatique de pointe
- Permet de tirer avantage d'un flux de travail intégré**  
 Permet de partir de l'ADNa pour rapporter l'interprétation en utilisant la plateforme DRAGEN<sup>MC</sup> Bio-IT pour l'appel des variants en cinq jours

\* bTMB et bMSI se rapportent aux marqueurs plasmatiques (sang).

Tableau 1: TruSight Oncology 500 ctDNA en bref

Paramètre	Détails
Instrument	Système NovaSeq 6000
Taille du panel	1,94 Mb d'ADN
Contenu du panel	523 gènes 59 gènes pour les CNV 23 gènes pour les fusions de gènes MSI (> 2 400 loci) TMB
Exigence d'intrant d'ADN	30 ng d'ADNa <sup>a</sup>
Type d'échantillon	ADNa dérivé du sang
Durée totale du test	5 jours de la préparation de bibliothèque au rapport de variants
Durée de l'analyse de séquençage	36 h d'analyse globale, 10 h d'analyse (Flow Cell S2) 45 h d'analyse globale, 22 h d'analyse (Flow Cell S4)
Analyse de séquençage	2 × 151 pb
Débit d'échantillons	8 échantillons par analyse (Flow Cell S2) 24 échantillons par analyse (Flow Cell S4) 48 échantillons par trousse de préparation de bibliothèques
Seuil de détection	FAV de 0,5 % pour les petits variants Modification de facteur ≥ 1,4 pour l'amplification des gènes Modification de facteur ≤ 0,6 pour la délétions des gènes ≥ 2 % de fraction tumorale pour MSI
Sensibilité analytique	≥ 95 % (à la limite de détection (LDD) pour tous les types de variant)
Spécificité analytique	≥ 95 %

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

### Introduction

La biopsie liquide permet l'analyse complète de l'ADN acellulaire (ADNa) circulant dans le plasma, offrant une approche non effractive pour le profilage de tumeurs solides. Pour tirer profit de la biopsie liquide, il est essentiel d'utiliser un test très sensible et spécifique capable de détecter les mutations somatiques à de basse fréquence. TruSight Oncology 500 ctDNA exploite la puissance de la technologie avérée de séquençage de prochaine génération (SPG) d'Illumina pour obtenir cette grande sensibilité et permet un profilage complet de l'ADN tumoral circulant (ADNtc) que l'on retrouve dans l'ADNa (Figure 1, Tableau 1). En combinant cette solution de pointe avec la puissance bioinformatique du logiciel d'analyse DRAGEN du test TruSight Oncology 500 ctDNA, les chercheurs cliniciens ont à leur disposition une solution « de l'ADN à la production du rapport » pour évaluer de multiples types de variants parmi des centaines de gènes en un seul test.

TruSight Oncology 500 ctDNA est compatible avec les réactifs de séquençage NovaSeq 6000 v1.5. En plus des augmentations d'efficacité d'exploitation qui entraînent des réductions potentielles du prix par échantillon > 35 %, ces réactifs offrent une durée de conservation prolongée de six mois et des scores Q30 améliorés.

### La puissance de la biopsie liquide

Contrairement à une biopsie de tissus qui fournit des renseignements à propos d'une partie seulement de la tumeur, la biopsie liquide fournit des informations à propos de l'hétérogénéité inter et intratumorale dans tout le corps. Des études récentes montrent que les analyses d'ADNa ont détecté un nombre important de biomarqueurs et de modifications à l'ADN liées à la résistance recommandés par les lignes directrices qui ne se retrouvent pas dans les biopsies de tissus correspondants<sup>1</sup>. De plus, une étude portant sur le cancer du poumon non à petites cellules a révélé que les analyses d'ADNa concordait fortement avec les analyses de tissus<sup>2</sup>.

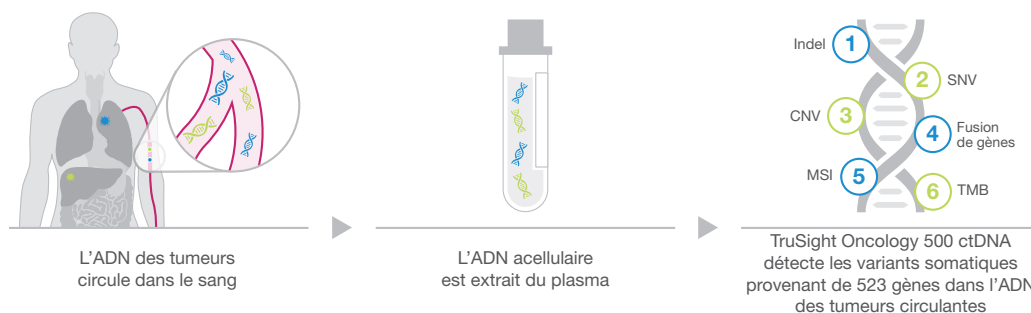
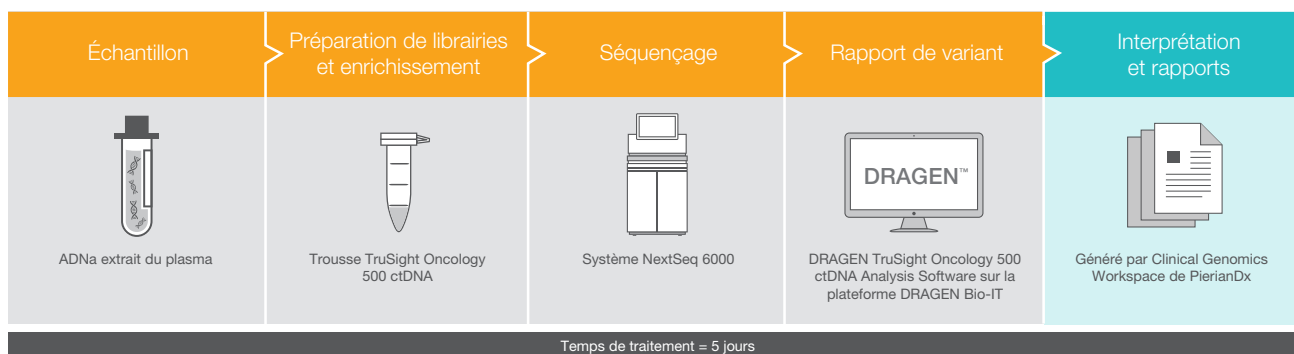


Figure 1 : La biopsie liquide permet le profilage de biomarqueurs pour de multiples types de variants et de cancer — Des algorithmes sophistiqués d'appel de variants et le séquençage en profondeur élevée permet la détection de biomarqueurs importants dans l'ADNa avec 0,5 % de limite de détection (LDD).



**Figure 2 :** Flux de travail du test TruSight Oncology 500 ctDNA — Le test TruSight Oncology 500 ctDNA s’intègre aux flux de travail des laboratoires actuels, passant de l’ADNa à un rapport de variants en cinq jours.

## Une base de contenu complet

Le contenu du TruSight Oncology 500 ctDNA a été conçu en collaboration avec les autorités reconnues de la communauté oncologique et comprend les biomarqueurs actuels et en émergence avec une couverture complète des gènes que l’on retrouve dans les principales lignes directrices et dans les principaux essais cliniques pour de multiples types de tumeurs. La conception de la sonde de panel permet de capturer les fusions de gènes connus et nouveaux, et comprend 523 gènes pour la détection des variants susceptibles de jouer un rôle dans l’oncogénèse. Les biomarqueurs comprennent des variants mononucléotidiques (SNV), des insertions et délétions (indel), des variants du nombre de copies (CNV), des fusions de gènes et des signatures génomiques complexes en immuno-oncologie, comme l’instabilité des microsatellites (MSI) et le fardeau mutationnel des tumeurs (TMB) (Tableau 2). Pour obtenir une liste complète des gènes, visitez [www.illumina.com/products/by-type/clinical-research-products/trusight-oncology-500-ctdna.html](http://www.illumina.com/products/by-type/clinical-research-products/trusight-oncology-500-ctdna.html).

**Tableau 2: Exemples de variants détectés à l’aide du test TruSight Oncology 500 ctDNA**

Type de variant	Exemples pertinents
SNV et indel	<i>EGFR, POLE, TMPRSS2, BRAF</i>
Fusions de gènes	<i>ALK, ROS1, NTRK, RET</i>
CNV	<i>HER2</i>
MSI	Score MSI
TMB	Score TMB

## Technologie éprouvée pour la détection des biomarqueurs de bas niveau

Basé sur les produits de traitement éprouvés de séquençage par synthèse (SPS) d’Illumina, TruSight Oncology 500 ctDNA permet le profilage génomique complet à partir de seulement 30 ng d’ADNa en faisant une alternative idéale à utiliser lorsque l’analyse des tissus n’est pas disponible. La préparation de bibliothèques tire profit de la chimie d’enrichissement des cibles, à l’aide de sondes biotinylées et de perles magnétiques recouvertes de streptavidine pour enrichir des cibles sélectionnées de bibliothèques basées sur l’ADN. La chimie d’enrichissement ciblée de capture-hybridation utilise des sondes qui sont suffisamment grosses pour conférer une forte spécificité contraignante, mais permet toujours l’hybridation à des cibles contenant de petites mutations. Cette approche permet de réduire la perte d’échantillons en présence des variations naturelles d’allèles et des artefacts de séquençage.

Puisque l’ADNtc représente une petite fraction d’ADNa, des méthodes puissantes sont nécessaires pour séparer le signal du bruit. La préparation des bibliothèques intègre des identifiants moléculaires uniques (IMU) qui permettent l’identification de variants à des fréquences très basses<sup>3</sup>. Les bibliothèques TruSight Oncology 500 ctDNA sont séquençées sur le NovaSeq 6000 System à des profondeurs élevées (400 millions de lectures par échantillon à ~ 35 000x) pour améliorer la sensibilité. Le résultat est la capacité de détecter des mutations à une fréquence d’allèles variants (FAV) de 0,5 % pour de petits variants, avec 95 % de sensibilité analytique et > 99,995 % de spécificité analytique (Tableau 3).

**Tableau 3: Détection de variants de faible niveau avec un grand degré de précision**

Type de variant	Sensibilité analytique <sup>a</sup>	Spécificité analytique <sup>b</sup>
Petits variants (≥ 0,5 % FAV)	≥ 95 %	≥ 99,995 %
Amplifications des gènes (≥ 1,4 changement de pliure)	≥ 95 %	≥ 95 %
Délétions des gènes (≤ 0,6 changement de pliure)	≥ 95 %	≥ 95 %
Fusions de gènes (0,5 %)	≥ 95 %	≥ 95 %
Détection élevée de MSI (≥ à 2 % de fraction tumorale)	≥ 95 %	≥ 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

Le DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software utilise des algorithmes bioinformatiques accélérés, entièrement intégrés pour surmonter les défis liés à l’ADNa et assurer une performance optimale du test. Le logiciel effectue 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 DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software fournit un score MSI quantitatif dérivé de > 2 400 sites de marqueurs MSI homopolymères. Pour l’analyse TMB, le logiciel DRAGEN optimise la sensibilité en mesurant à la fois les SNV et les indel synonymes et non synonymes. Après l’appel de variants et la correction d’erreurs, la précision de la mesure de TMB est davantage améliorée par la filtration des variants de la lignée germinale, des variants de faible confiance et des variants associés à l’hématopoïèse clonale de potentiel indéterminé.

Le logiciel d'analyse DRAGEN du test TruSight Oncology 500 ctDNA fonctionne sur un serveur DRAGEN v3 local d'Illumina\*. Les améliorations apportées au matériel et au logiciel de cette plateforme ultra-rapide permettent de diminuer le temps d'analyse des données d'environ 85 % qui passe de neuf jours à environ 20 heures (Tableau 4).

Clinical Genomics Workspace de PierianDx complète l'analyse tertiaire. Téléversez simplement les fichiers de rapport de variants directement dans le nuage du Clinical Genomics Workspace. Clinical Genomics Workspace effectue l'annotation et le filtrage des variants pour une interprétation et des rapports simplifiés. À partir de milliers de variants dans le génome, Clinical Genomics Workspace filtre et priorise les variants biologiques pertinents pour la production automatique du rapport génomique personnalisable final. Le flux de travail complet, de l'ADNa à un rapport consolidé des variants, prend seulement cinq jours (Figure 2).

### Une validation étendue permet d'obtenir des résultats précis et hautement reproductibles

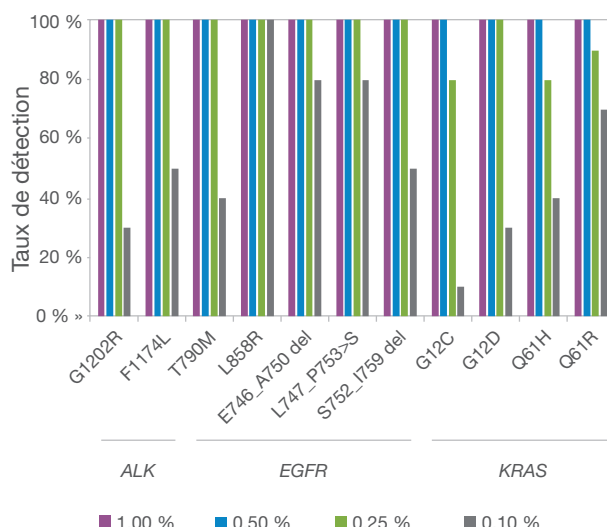
Pour démontrer les résultats de grande qualité atteints avec le test TruSight Oncology 500 ctDNA, Illumina a effectué différentes études portant sur l'évaluation de la capacité à appeler les SNV, les CNV, les fusions des gènes, les TMB et les MSI (Figures 3 et 4, tableaux 5 et 6).

**Tableau 4 : Le temps nécessaire pour l'analyse des données est réduit avec le serveur DRAGEN local v3**

Étape d'analyse des données	Solution non DRAGEN <sup>a</sup>	Logiciel d'analyse DRAGEN du test TruSight Oncology 500 ctDNA
Conversion BCL	6 heures	1 heure
Alignement + combinaison + réalignement	170 heures	11 heures
Appel de fusion de gènes	10 heures	2 heures
Appel de variants	24 heures	8 heures
Durée totale	~ 9 jours	~20 heures (~85 % de réduction)

a. Pipeline non parallélisé à un seul nœud (mémoire de 128 Go, 24 cœurs) pour 24 échantillons à l'aide de la Flow Cell S4.

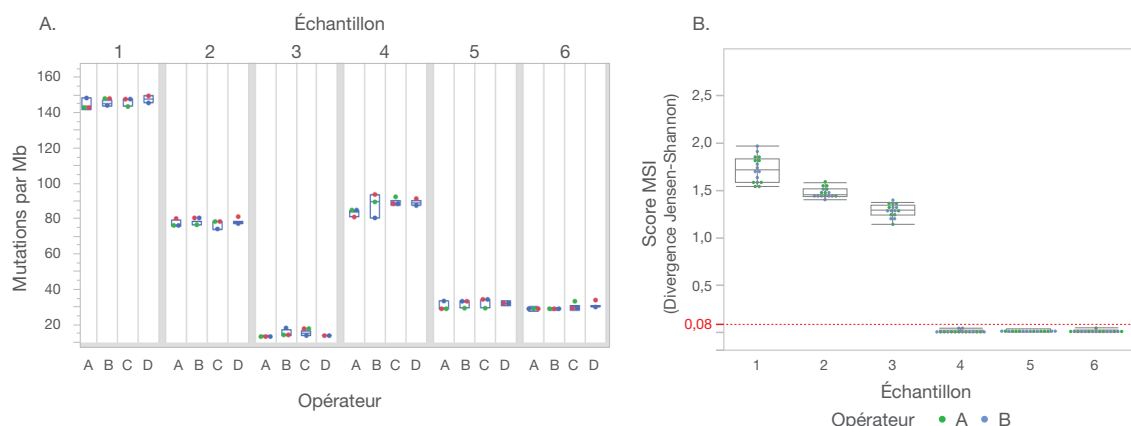
\* Une solution DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software infonuagique sera dévoilée bientôt.



**Figure 3 : Détection de petit variant à faible FAV** — Des échantillons comportant une FAV connue pour chaque variant ont été dilués à des valeurs allant de 0,10 à 1,00 % de la FAV. Cinq réplicats de chaque échantillon ont été analysés avec TruSight Oncology 500 ctDNA en utilisant 30 ng d'ADN de contrôle de référence commercial.

### Résumé

TruSight Oncology 500 ctDNA est un test multiplexe basé sur le SPG qui analyse simultanément des centaines de biomarqueurs liés au cancer à partir de plasma. Le contenu du test est aligné avec les lignes directrices et les essais cliniques actuels, avec la capacité de détecter de multiples types de variants provenant de 523 gènes impliqués dans différents types de tumeurs, sans nécessiter de multiples échantillons pour des tests itératifs. TruSight Oncology 500 ctDNA fournit aussi une évaluation immuno-oncologique et des biomarqueurs émergents (TMB, MSI, *NTRK* et *ROS1*). Tirant profit d'un contenu génomique étendu, d'une technologie de séquençage de pointe et d'un logiciel amélioré, TruSight Oncology 500 ctDNA propose une solution intégrée pour accélérer les projets de recherche clinique dans votre propre laboratoire avec une complexité d'analyse et opérationnelle minimale.



**Figure 4 : Mesure de TMB et de MSI reproductibles** — (A) TMB a été évalué dans six échantillons plasmatiques différents entre quatre opérateurs dans le réplicat. (B) MSI a été évalué dans trois lignées cellulaires nucléosomiques préparées avec un statut MSI-élevé connu (1-3) et trois échantillons d'ADNa provenant de tumeurs MSI-élevé à faible prévalence (4-6) à travers deux différents opérateurs (vert, bleu).

Tableau 5: Détection sensible des CNV

Gène	Changement de pliure attendu	Moyenne observée	Écart-type	Taux de détection
<b>Amplifications</b>				
<i>AKT2</i>	1,4	1,4	0,02	100 %
<i>BRAF</i>	1,5	1,5	0,01	100 %
<i>BRCA2</i>	1,8	1,5	0,01	100 %
<i>CCND3</i>	1,5	1,4	0,01	100 %
<i>CDK6</i>	1,5	1,5	0,01	100 %
<i>FGF14</i>	1,3	1,5	0,01	100 %
<i>FGF3</i>	2,1	1,6	0,01	100 %
<i>FGF4</i>	1,4	1,2	0,01	100 %
<i>FGFR2</i>	1,3	1,5	0,01	100 %
<i>MET</i>	1,4	1,5	0,02	100 %
<i>MYC</i>	1,7	1,8	0,02	100 %
<b>Délétions</b>				
<i>BRCA1</i>	0,8	0,8	0,01	100 %
<i>BRCA2</i>	0,8	0,8	0,01	100 %
<i>AR</i>	0,7	0,8	0,01	100 %

Les échantillons comportant des changements de pliure connus pour les amplifications et délétions des gènes ont été évalués à l'aide de TruSight Oncology 500 ctDNA avec 30 ng d'entrée d'ADNa. Cinq réplicats de chaque échantillon ont été analysés.

Tableau 6: Détection des fusions de gènes à faible FAV

Fusion de gènes	FAV attendue	FAV observée	Écart-type	Taux de détection
<i>FGFR2-COL14A1</i>	4,1 %	4,2 %	0,5 %	100 %
<i>NPM1-ALK</i>	3,4 %	0,7 %	0,2 %	100 %
<i>FGFR3-BAIAP2L1</i>	3,4 %	0,7 %	0,2 %	100 %
<i>NPM1-ALK</i>	2,4 %	0,4 %	0,1 %	100 %
<i>EML4-ALK</i>	1,7 %	0,5 %	0,1 %	100 %
<i>CCDC6-RET</i>	1,0 %	0,7 %	0,1 %	100 %
<i>FGFR2-COL14A1</i>	0,9 %	0,4 %	0,1 %	100 %
<i>EML4-ALK</i>	0,7 %	0,2 %	0,1 %	100 %
<i>NCOA4-RET</i>	0,5 %	0,1 %	0,0 %	100 %
<i>EML4-ALK</i>	0,5 %	0,8 %	0,2 %	100 %
<i>NPM1-ALK</i>	0,5 %	0,1 %	0,0 %	100 %
<i>CCDC6-RET</i>	0,2 %	0,2 %	0,1 %	100 %

Des échantillons comportant des fréquences d'allèles avec fusion de gènes connues allant de ~ 0,5 à 4 % ont été évalués. Cinq réplicats de chaque échantillon ont été analysés avec TruSight Oncology 500 ctDNA en utilisant 30 ng d'entrée d'ADNa. La directionnalité de la fusion des gènes est rapportée en fonction de l'expression connue. Consultez le Guide de l'utilisateur de l'application locale TruSight Oncology 500 ctDNA pour obtenir de plus amples renseignements sur la directionnalité de la fusion basée sur l'ADN.

## En savoir plus

Pour en apprendre davantage sur TruSight Oncology 500 ctDNA, rendez-vous au [www.illumina.com/tso500-ctDNA](http://www.illumina.com/tso500-ctDNA)

Pour en apprendre davantage sur la plateforme Bio-IT DRAGEN, visitez le [www.illumina.com/DRAGEN](http://www.illumina.com/DRAGEN)

## Références

- Parikh A. R., Leshchiner I., Elagina L. et coll. [Liquid versus tissue biopsy for detecting acquired resistance and tumor heterogeneity in gastrointestinal cancers.](#) *Nat Med.* 2019; 25 (9) : 1415-1421.
- Leighl N. B., Page R. D., Raymond V. M. et coll. [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.
- illumina (2017) Réactifs IMU TruSight Oncology. [www.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/datasheets/trusight-oncology-umi-reagents-datasheet-100000050425.pdf](http://www.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/datasheets/trusight-oncology-umi-reagents-datasheet-100000050425.pdf). Consulté le 4 mai 2020.

## Renseignements relatifs à la commande

Produit	Quantité	N° de référence
Trousse TruSight Oncology 500 ctDNA	48 échantillons/ 16 index	20039252
TruSight Oncology 500 ctDNA Kit et rapport d'interprétation PierianDx	48 échantillons/ 16 index	20043410
<b>NovaSeq Reagent Kits</b>		
NovaSeq 6000 S2 Reagent Kit v1.5	300 cycles	20028314
Trousse NovaSeq 6000 S4 Reagent Kit v1.5	300 cycles	20028312
NovaSeq Xp 4-Lane Kit v1.5	1 trousse	20043131
<b>Signalement des variants sur site</b>		
DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software, niveau 1	Licence d'un an	20042100
DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software, niveau 2	Licence d'un an	20042101
DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software, niveau 3	Licence d'un an	20042102
DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software, niveau 4	Licence d'un an	20042103
DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software, niveau 5	Licence d'un an	20042104
DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software, niveau 6	Licence d'un an	20042105
DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software, niveau 7	Licence d'un an	20042106
DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software, niveau 8	Licence d'un an	20042107
Serveur DRAGEN d'Illumina v3	1 serveur	20040619
Plan avancé de remplacement du serveur DRAGEN d'Illumina		20032797
Installation du serveur DRAGEN d'Illumina		20031995