

TruSight^{MC} Oncology Comprehensive (EU)

Une solution de diagnostic *in vitro* (DIV) disponible en trousse et portant le marquage CE pour un profilage génomique complet (PGC)

- Détectez des biomarqueurs exploitables sur > 28 types de tumeurs solides à l'aide d'une biopsie minimale du patient
- Évaluez simultanément les biomarqueurs actuels et émergents à partir des directives de pratique clinique, des étiquettes de médicaments et des essais cliniques
- Fournissez un rapport facile à lire et pertinent sur le plan clinique qui peut aider à éclairer les décisions thérapeutiques en 4 à 5 jours
- Devenez un fournisseur de médecine de précision en proposant des tests PGC dans votre établissement



Révolutionnaire dans le diagnostic du cancer

Le profilage génomique complet (PGC) change la donne en matière de diagnostic du cancer. Au fur et à mesure que le nombre de biomarqueurs exploitables, de thérapies approuvées et d'essais expérimentaux augmente, les tests à biomarqueur unique et les panels de points chauds ciblés sont incapables de suivre le rythme, ce qui augmente les risques de faire l'impasse sur des renseignements critiques. De plus, ces méthodes ne détectent pas certaines signatures de réponse d'immunothérapie actuelles ou émergentes telles que la charge mutationnelle tumorale (TMB, Tumor Mutational Burden). Une option pour relever les défis d'une liste toujours croissante de thérapies et de biomarqueurs potentiels est le PGC reposant sur le séquençage de nouvelle génération (SNG). En un seul test, le PGC fournit une vue complète de la génétique d'une tumeur, capture des renseignements sur des centaines de biomarqueurs et rapporte des résultats cliniquement exploitables qui peuvent conduire à des schémas thérapeutiques moléculairement appariés et à de meilleurs résultats pour les patients¹⁻⁶.

Offrir un test PGC à l'interne procure de nombreux avantages, notamment la possibilité de garder le contrôle sur la biopsie et les données du patient, ce qui vous donne davantage de pouvoir en tant que fournisseur de médecine de précision et augmente votre participation aux soins du patient. Cela dit, le PGC peut s'avérer être une entreprise complexe lorsqu'il est mis en œuvre en tant que test développé en laboratoire (TDL). TruSight Oncology Comprehensive (EU) (« TSO Comprehensive [EU] ») facilite cette tâche onéreuse.

En tant que solution en trousse de DIV homologuée et disposant de la marque CE, TSO Comprehensive (EU) fournit un flux de travail PGC rationalisé commençant par l'ADN ou l'ARN et se terminant par des résultats cliniquement exploitables. Tous les réactifs et les pipelines d'appel de variants sont largement validés par Illumina, ce qui minimise le temps et les efforts nécessaires pour vérifier une nouvelle solution et simplifie le processus de mise en œuvre.

À propos de TSO Comprehensive (EU)

TSO Comprehensive (EU) est le premier test PGC en trousse de diagnostic *in vitro* (DIV) disponible dans le commerce contenant à la fois de l'ADN et de l'ARN. La solution reposant sur le SNG analyse simultanément 517 gènes associés au cancer et de pertinence clinique connue dans un flux de travail intégré (figure 1, tableaux 1-4). Le test comprend des réactifs en trousse pour la préparation et le séquençage de la librairie, ainsi que des pipelines logiciels automatisés qui identifient les variants, interprètent les résultats et produisent des rapports cliniquement exploitables. Le séquençage est effectué sur le système de DIV NextSeq^{MC} 550Dx portant le marquage CE. Grâce à cette solution, les laboratoires peuvent fournir des tests PGC qui permettent d'obtenir des renseignements fiables et opportuns concernant les biomarqueurs pertinents qui sont mentionnés dans la littérature médicale primaire, dans les directives, sur les étiquettes des médicaments et dans les essais cliniques, ce en moins de temps et en utilisant moins d'échantillons de biopsie que les méthodes itératives actuelles.

Séquençage totalement automatique et analyse des données

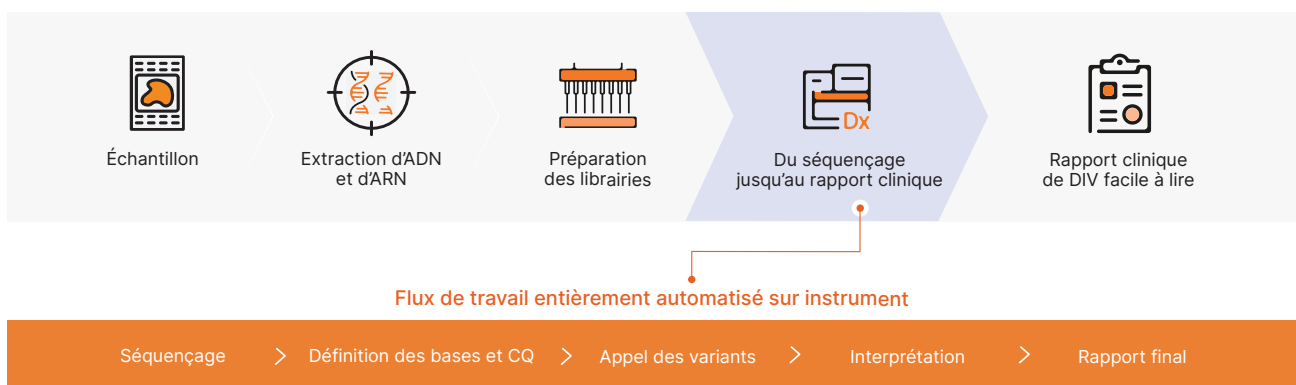


Figure 1 : Flux de travail TSO Comprehensive – Possibilité de regrouper jusqu'à sept échantillons de patients et deux échantillons de contrôle par analyse à l'aide de TSO Comprehensive (EU). Les étapes de préparation et d'enrichissement de la librairie prennent 2 jours. Le flux de travail entièrement automatisé du système NextSeq 550Dx séquence les échantillons, effectue la définition des bases et le CQ, l'appel de variants et l'interprétation, puis élabore un rapport clinique. Le flux de travail complet s'effectue en 4 à 5 jours.

Tableau 1 : Aperçu de TSO Comprehensive (EU)

Fonctionnalité	Description ^a
Système de séquençage	Système NextSeq 550Dx
Débit d'échantillons	Jusqu'à 7 échantillons de patient et 2 échantillons de contrôle (1 positif et 1 NTC) par analyse de séquençage
Contenu du panel	<ul style="list-style-type: none"> • 517 gènes pour les petits variants • 23 gènes pour les fusions • 2 gènes pour les variants d'épissage (<i>MET</i>, <i>EGFR</i>) • 2 gènes pour les amplifications (<i>ERBB2</i>, <i>MET</i>) • TMB et MSI
Types de variants détectés	<ul style="list-style-type: none"> • Variants d'ADN : SNV, MNV, insertions, suppressions, amplifications géniques • Variants d'ARN : fusions, variants d'épissage • Signatures génomiques complexes : TMB et MSI
Exigence d'entrée d'ADN	40 ng d'ADN génomique
Exigence d'entrée d'ARN	40 ng d'ARN total
Exigence d'entrée de tissus FFPE	Volume tissulaire recommandé ≥ 1 mm ³ de tissu Minimum 20 % de contenu tumoral (par zone) nécessaire pour détecter les mutations pilotes somatiques, ≥ 30 % de contenu tumoral nécessaire pour détecter MSI-high
Nbre de lames de biopsie	Un minimum de 5 recommandées (coupes de 10 µM, de 20 mm ² de tissu chacune)
Durée totale du test	4 à 5 jours de l'acide nucléique au rapport clinique
Limite de détection	Consulter l'annexe
Faux positifs par type de variant d'ADN	Amplifications géniques, 0 % Petits variants d'ADN, 0,0001 % MSI, 0 % TMB, S. O.
Faux positifs par type de variant d'ARN	Fusion d'ARN, 0 % Variants d'épissage d'ARN, 0 %

a. NTC, contrôle de modèle négatif; S. O., sans objet.

Profilage complet des biomarqueurs

Les tests monogéniques et les panels de points chauds ciblés sont limités par le nombre de cibles qu'ils analysent et le type de variants qu'ils peuvent détecter. Le PGC avec TSO Comprehensive (EU) surmonte ces limitations de contenu et analyse simultanément 517 gènes connus pour leur association au cancer et couvrant > 28 types de tumeurs solides dans un seul test (tableaux 2-4). Le test appelle plusieurs types de variants d'ADN et d'ARN, y compris des variants mononucléotidiques (SNV, Single Nucleotide Variant), des variants polynucléotidiques (MNV, Multiple Nucleotide Variant), des insertions/suppressions (indels), des amplifications géniques, des fusions et des variants d'épissage (figure 2). De plus, le test détecte les biomarqueurs d'immunothérapie émergents (tels que la TMB⁷ et l'instabilité des microsatellites (MSI, Microsatellite Instability)⁸⁻¹⁰). Le contenu fournit une couverture importante des directives clés pour plusieurs types de tumeurs et de gènes liés aux essais cliniques (figure 3, tableau 5). La nature inclusive de TSO Comprehensive (EU) maximise les chances de trouver un biomarqueur positif.

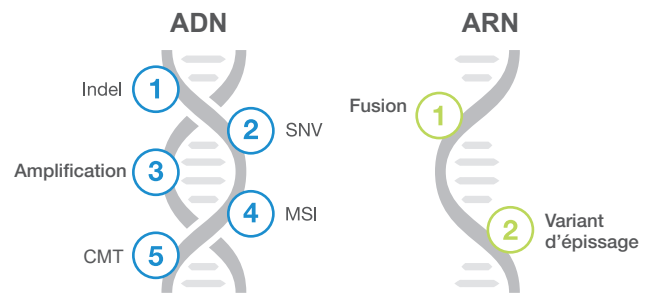


Figure 2 : Types de variant et signatures génomiques détectés par TSO Comprehensive (EU)

Indications de diagnostic d'accompagnement

Illumina a établi de multiples partenariats avec plusieurs sociétés pharmaceutiques pour développer un pipeline croissant d'indications de diagnostic d'accompagnement (CDx). Ces renseignements permettront d'identifier les patients susceptibles de répondre à des thérapies spécifiques. TSO Comprehensive (EU) est actuellement indiqué comme test CDx pour identifier les patients cancéreux présentant des tumeurs solides et positives aux fusions des gènes *NTRK1*, *NTRK2* ou *NTRK3* pour le traitement par VITRAKVI® (larotrectinib), conformément à l'étiquetage thérapeutique approuvé¹¹⁻¹³. D'autres indications CDx, actuellement en cours de développement, seront incluses une fois les approbations réglementaires appropriées reçues (tableau 6).

Tableau 2 : Contenu d'ADN inclus dans TSO Comprehensive (EU)

ABL1	BRCA2	CTNNB1	EWSR1	GATA1	IDH2	MAP3K13	NOTCH3	PNRC1	RPS6KA4	STK40
ABL2	BRD4	CUL3	EZH2	GATA2	IFNGR1	MAP3K14	NOTCH4	POLD1	RPS6KB1	SUFU
ACVR1	BRIP1	CUX1	FAM123B	GATA3	IGF1	MAP3K4	NPM1	POLE	RPS6KB2	SUZ12
ACVR1B	BTG1	CXCR4	FAM175A	GATA4	IGF1R	MAPK1	NRAS	PPARG	RPTOR	SYK
AKT1	BTK	CYLD	FAM46C	GATA6	IGF2	MAPK3	NRG1	PPM1D	RUNX1	TAF1
AKT2	C11orf30	DAXX	FANCA	GEN1	IKBKE	MAX	NSD1	PPP2R1A	RUNX1T1	TBX3
AKT3	CALR	DCUN1D1	FANCC	GID4	IKZF1	MCL1	NTRK1	PPP2R2A	RYBP	TCEB1
ALK	CARD11	DDR2	FANCD2	GLI1	IL10	MDC1	NTRK2	PPP6C	SDHA	TCF3
ALOX12B	CASP8	DDX41	FANCE	GNA11	IL7R	MDM2	NTRK3	PRDM1	SDHAF2	TCF7L2
ANKRD11	CBFB	DHX15	FANCF	GNA13	INHA	MDM4	NUP93	PREX2	SDHB	TERC
ANKRD26	CBL	DICER1	FANCG	GNAQ	INHBA	MED12	NUTM1	PRKAR1A	SDHC	TERT
APC	CCND1	DIS3	FANCI	GNAS	INPP4A	MEF2B	PAK1	PRKCI	SDHD	TET1
AR	CCND2	DNAJB1	FANCL	GPR124	INPP4B	MEN1	PAK3	PRKDC	SETBP1	TET2
ARAF	CCND3	DNMT1	FAS	GPS2	INSR	MET	PAK7	PRSS8	SETD2	TFE3
ARFRP1	CCNE1	DNMT3A	FAT1	GREM1	IRF2	MGA	PALB2	PTCH1	SF3B1	TFRC
ARID1A	CD274	DNMT3B	FBXW7	GRIN2A	IRF4	MITF	PARK2	PTEN	SH2B3	TGFBR1
ARID1B	CD276	DOT1L	FGF1	GRM3	IRS1	MLH1	PARP1	PTPN11	SH2D1A	TGFBR2
ARID2	CD74	E2F3	FGF10	GSK3B	IRS2	MLL/KMT2A	PAX3	PTPRD	SHQ1	TMEM127
ARID5B	CD79A	EED	FGF14	H3F3A	JAK1	MLLT3	PAX5	PTPRS	SLIT2	TMPPRSS2
ASXL1	CD79B	EGFL7	FGF19	H3F3B	JAK2	MPL	PAX7	PTPRT	SLX4	TNFAIP3
ASXL2	CDC73	EGFR	FGF2	H3F3C	JAK3	MRE11A	PAX8	QKI	SMAD2	TNFRSF14
ATM	CDH1	EIF1AX	FGF23	HGF	JUN	MSH2	PBRM1	RAB35	SMAD3	TOP1
ATR	CDK12	EIF4A2	FGF3	HIST1H1C	KAT6A	MSH3	PDCD1	RAC1	SMAD4	TOP2A
ATRX	CDK4	EIF4E	FGF4	HIST1H2BD	KDM5A	MSH6	PDCD1LG2	RAD21	SMARCA4	TP53
AURKA	CDK6	EML4	FGF5	HIST1H3A	KDM5C	MST1	PDGFRA	RAD50	SMARCB1	TP63
AURKB	CDK8	EP300	FGF6	HIST1H3B	KDM6A	MST1R	PDGFRB	RAD51	SMARCD1	TRAF2
AXIN1	CDKN1A	EPCAM	FGF7	HIST1H3C	KDR	MTOR	PDK1	RAD51B	SMC1A	TRAF7
AXIN2	CDKN1B	EPHA3	FGF8	HIST1H3D	KEAP1	MUTYH	PDPK1	RAD51C	SMC3	TSC1
AXL	CDKN2A	EPHA5	FGF9	HIST1H3E	KEL	MYB	PGR	RAD51D	SMO	TSC2
B2M	CDKN2B	EPHA7	FGFR1	HIST1H3F	KIF5B	MYC	PHF6	RAD52	SNCAIP	TSHR
BAP1	CDKN2C	EPHB1	FGFR2	HIST1H3G	KIT	MYCL1	PHOX2B	RAD54L	SOCS1	U2AF1
BARD1	CEBPA	ERBB2	FGFR3	HIST1H3H	KLF4	MYCN	PIK3C2B	RAF1	SOX10	VEGFA
BBC3	CENPA	ERBB3	FGFR4	HIST1H3I	KLHL6	MYD88	PIK3C2G	RANBP2	SOX17	VHL
BCL10	CHD2	ERBB4	FH	HIST1H3J	KRAS	MYOD1	PIK3C3	RARA	SOX2	VTCN1
BCL2	CHD4	ERCC1	FLCN	HIST2H3A	LAMP1	NAB2	PIK3CA	RASA1	SOX9	WISP3
BCL2L1	CHEK1	ERCC2	FLI1	HIST2H3C	LATS1	NBN	PIK3CB	RB1	SPEN	WT1
BCL2L11	CHEK2	ERCC3	FLT1	HIST2H3D	LATS2	NCOA3	PIK3CD	RBM10	SPOP	XIAP
BCL2L2	CIC	ERCC4	FLT3	HIST3H3	LMO1	NCOR1	PIK3CG	RECQL4	SPTA1	XPO1
BCL6	CREBBP	ERCC5	FLT4	HNF1A	LRP1B	NEGR1	PIK3R1	REL	SRC	XRCC2
BCOR	CRKL	ERG	FOXA1	HNRNPK	LYN	NF1	PIK3R2	RET	SRSF2	YAP1
BCORL1	CRLF2	ERRF1	FOXL2	HOXB13	LZTR1	NF2	PIK3R3	RFWD2	STAG1	YES1
BCR	CSF1R	ESR1	FOXO1	HRAS	MAGI2	NFE2L2	PIM1	RHEB	STAG2	ZBTB2
BIRC3	CSF3R	ETS1	FOXP1	HSD3B1	MALT1	NFKBIA	PLCG2	RHOA	STAT3	ZBTB7A
BLM	CSNK1A1	ETV1	FRS2	HSP90AA1	MAP2K1	NKX2-1	PLK2	RICTOR	STAT4	ZFHX3
BMPRI1A	CTCF	ETV4	FUBP1	ICOSLG	MAP2K2	NKX3-1	PMAIP1	RIT1	STAT5A	ZNF217
BRAF	CTLA4	ETV5	FYN	ID3	MAP2K4	NOTCH1	PMS1	RNF43	STAT5B	ZNF703
BRCA1	CTNNA1	ETV6	GABRA6	IDH1	MAP3K1	NOTCH2	PMS2	ROS1	STK11	ZRSR2

Le contenu grisé est analysé pour les amplifications géniques.












Pantumoral : <i>BRAF, NTRK1, NTRK2, NTRK3, RET, MSI, CMT</i>												Gènes présentant des biomarqueurs ayant une importance clinique potentielle†	
Gènes présentant des biomarqueurs ayant une importance clinique*													
	Sein	<i>BRCA1</i>	<i>BRCA2</i>	<i>ERBB2</i>	<i>ESR1</i>	<i>PALB2</i>	<i>PIK3CA</i>					180	
	Colorectal	<i>ERBB2</i>	<i>KRAS</i>	<i>NRAS</i>								166	
	Os	<i>EGFR</i>	<i>ERG</i>	<i>ETV1</i>	<i>ETV4</i>	<i>EWSR1</i>	<i>FEV</i>	<i>FLI1</i>	<i>FUS</i>	<i>H3F3A</i>	<i>HEY1</i>	<i>IDH1</i>	140
	Poumon	<i>ALK</i>	<i>EGFR</i>	<i>ERBB2</i>	<i>KRAS</i>	<i>MET</i>	<i>NUTM1</i>	<i>ROS1</i>					223
	Mélanome	<i>KIT</i>	<i>NRAS</i>	<i>ROS1</i>									172
	Ovaires	<i>BRCA1</i>	<i>BRCA2</i>	<i>FOXL2</i>									149
	SNC‡	<i>APC</i>	<i>ATRX</i>	<i>CDKN2A</i>	<i>CDKN2B</i>	<i>EGFR</i>	<i>H3F3A</i>	<i>HIST1H3B</i>	<i>HIST1H3C</i>	<i>IDH1</i>	<i>IDH2</i>	<i>MYCN</i>	140
	Prostate	<i>AR</i>	<i>ATM</i>	<i>BARD1</i>	<i>BRCA1</i>	<i>BRCA2</i>	<i>BRIP1</i>	<i>CDK12</i>	<i>CHEK1</i>	<i>CHEK2</i>	<i>FANCL</i>	<i>FGFR2</i>	151
	Thyroïde	<i>HRAS</i>	<i>KRAS</i>	<i>NRAS</i>	<i>TERT</i>								165
	Utérin et col de l'utérus	<i>BRCA2</i>	<i>EPC1</i>	<i>ERBB2</i>	<i>ESR1</i>	<i>FOXO1</i>	<i>GREB1</i>	<i>JAZF1</i>	<i>NCOA2</i>	<i>NCOA3</i>	<i>NUTM2A</i>	<i>NUTM2B</i>	138
	Autres tumeurs solides	<i>ALK</i>	<i>APC</i>	<i>ARID1A</i>	<i>ASPSR1</i>	<i>ATF1</i>	<i>ATIC</i>	<i>BAP1</i>	<i>BCOR</i>	<i>BRCA1</i>	<i>BRCA2</i>	<i>CAMTA1</i>	152
		<i>CARS</i>	<i>CCNB3</i>	<i>CDK4</i>	<i>CDKN2A</i>	<i>CIC</i>	<i>CITED2</i>	<i>CLTC</i>	<i>COL1A1</i>	<i>COL6A3</i>	<i>CREB1</i>	<i>CREB3L1</i>	
		<i>CREB3L2</i>	<i>CSF1</i>	<i>CTNNB1</i>	<i>DDIT3</i>	<i>DDX3X</i>	<i>DNAJB1</i>	<i>DUX4</i>	<i>EED</i>	<i>EGFR</i>	<i>ERBB2</i>	<i>ERG</i>	
		<i>ETV1</i>	<i>ETV4</i>	<i>ETV6</i>	<i>EWSR1</i>	<i>FEV</i>	<i>FGFR2</i>	<i>FGFR3</i>	<i>FLI1</i>	<i>FOXL2</i>	<i>FOXO1</i>	<i>FOXO4</i>	
		<i>FUS</i>	<i>GLI1</i>	<i>HEY1</i>	<i>HGF</i>	<i>HMGA2</i>	<i>IDH1</i>	<i>KRAS</i>	<i>LEUTX</i>	<i>MAML3</i>	<i>MDM2</i>	<i>MYB</i>	
		<i>MYOD1</i>	<i>NAB2</i>	<i>NCOA2</i>	<i>NF1</i>	<i>NFATC2</i>	<i>NFIB</i>	<i>NR4A3</i>	<i>NRAS</i>	<i>NUTM1</i>	<i>NUTM2A</i>	<i>NUTM2B</i>	
		<i>PALB2</i>	<i>PATZ1</i>	<i>PAX3</i>	<i>PAX7</i>	<i>PDGFB</i>	<i>PDGFRA</i>	<i>PRKACA</i>	<i>PRKD1</i>	<i>RANBP2</i>	<i>ROS1</i>	<i>SDHA</i>	
		<i>SDHB</i>	<i>SDHC</i>	<i>SDHD</i>	<i>SMARCB1</i>	<i>SS18</i>	<i>SSX1</i>	<i>SSX2</i>	<i>SSX4</i>	<i>STAT6</i>	<i>SUZ12</i>	<i>TAF15</i>	
		<i>TCF12</i>	<i>TERT</i>	<i>TFE3</i>	<i>TFEB</i>	<i>TFG</i>	<i>TP53</i>	<i>TPM3</i>	<i>TPM4</i>	<i>TRAF7</i>	<i>TSPAN31</i>	<i>VGLL2</i>	
		<i>WT1</i>	<i>WWTR1</i>	<i>YAP1</i>	<i>YWHAE</i>	<i>ZC3H7B</i>							

Figure 3 : Gènes à biomarqueurs clés exploitables pour plusieurs types de tumeurs solides – Les gènes répertoriés représentent un sous-ensemble de gènes présents dans le panel TSO Comprehensive (EU). Analyse de contenu fournie par Velsera à partir de la base de connaissances du logiciel de DIV v8.5 (février 2023).

* Gènes liés à des étiquettes de médicaments ou à des directives actuelles.

† Fondé sur des preuves dans la littérature scientifique, présence dans des essais cliniques, ou lié à des étiquettes dans d'autres histologies.

‡ SNC, système nerveux central.

Tableau 3 : Contenu d'ARN inclus dans TSO Comprehensive (EU)

ALK	BRAF	ERG	ETV4	FGFR3	NTRK1	PAX3	ROS1
AXL	EGFR	ESR1	FGFR1	KIF5B	NTRK2	RAF1	TMPRSS2
BCL2	EML4	ETV1	FGFR2	NRG1	NTRK3	RET	

Les gènes indiqués sont évalués pour détecter les fusions connues et nouvelles.

Tableau 4 : Variants d'épissage inclus dans TSO Comprehensive (EU)

EGFR	MET
------	-----

Tableau 5 : Couverture de contenu de TSO Comprehensive (EU)

49 directives de pratique clinique
117 étiquettes de médicaments
~ 680 essais cliniques européens

Analyse courtoise de Velsera et réalisée à partir de la base de connaissances du logiciel TSO Comprehensive (EU). Mis à jour en février 2023.

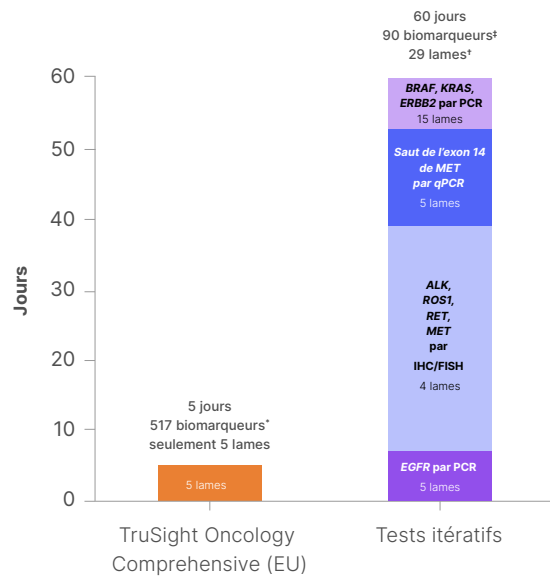
Tableau 6 : Indications CDx

Indication CDx	Partenaire
Tumeurs solides positives aux fusions des gènes <i>NTRK1</i> , <i>NTRK2</i> ou <i>NTRK3</i> pour le traitement par VITRAKVI (larotrectinib)	Bayer ¹¹⁻¹³
En cours de développement	
<i>ROS1</i>	Roche ¹⁴
<i>RET</i>	Eli Lilly ¹¹
<i>EGFR</i>	Développement interne
<i>DRH</i>	Myriad Genetics, Merck ^{15,16}
<i>TP53</i>	Kartos Therapeutics ¹⁷
MSI	Bristol Myers Squibb ¹⁵

Les développements des CDx s'appliquent au portefeuille TSO Comprehensive (EU). La disponibilité de chaque CDx variera selon la géographie et est estimée à partir de délais variables pour les approbations de thérapie et de test en fonction de la région.

Plus de renseignements, moins d'échantillon, en moins de temps

TSO Comprehensive (EU) fournit plus de renseignements à partir de moins d'échantillons, en moins de temps total par rapport aux méthodes de test itératives actuelles. Par exemple, un parcours potentiel pour un patient chez lequel on a diagnostiqué un carcinome pulmonaire non à petites cellules (NSCLC, Non-small cell lung carcinoma) à la suite de méthodes de test conventionnelles pourrait impliquer six tests différents, nécessitant 29 lames d'échantillons et plus de 42 jours pour obtenir des résultats concernant neuf biomarqueurs, suivis d'une analyse et d'un temps d'interprétation pour développer un plan de traitement¹⁸⁻²³. En revanche, un test PGC utilisant TSO Comprehensive (EU) nécessite généralement cinq lames et jusqu'à cinq jours pour générer un rapport exploitable contenant des renseignements sur plus de 500 biomarqueurs et sur les thérapies et les essais cliniques possibles (figure 4).



* Signatures génomiques complexes incluses
 † Sans inclure les lames nécessaires pour le marquage à l'hématoxyline et à l'éosine ou d'autres diagnostics initiaux
 ‡ Sans inclure les biomarqueurs les plus récents tels que NTRK, TMB, MSI

Figure 4 : Avantages de TSO Comprehensive (EU) par rapport aux tests itératifs – Exemple illustrant les parcours possibles pour un patient atteint de NSCLC. Le PGC avec TSO Comprehensive (EU) offre une couverture nettement plus étendue et nécessite moins de temps et moins d'échantillons par rapport aux tests itératifs sur un seul gène¹⁸⁻²³.

Un rapport clinique facile à lire et exploitable

Les résultats de TSO Comprehensive (EU), soutenus par une base de connaissances organisée par des experts, sont présentés dans un rapport unique, simplifié et exploitable. Il n'est pas nécessaire de rechercher plusieurs rapports de tests effectués sur une période pour tenter d'identifier des variants significatifs. Le rapport de TSO Comprehensive (EU) utilise un système de hiérarchisation pour classer les variants par niveau de pertinence clinique et peut aider à éclairer les décisions thérapeutiques conformément aux directives cliniques (figure 5).

Le rapport final comprend :

- les renseignements sur l'échantillon du patient, à savoir l'identifiant de l'échantillon, le type de tumeur, le sexe, l'analyse CQ, l'identifiant de l'analyse, et les détails de la base de données;
- les résultats du diagnostic d'accompagnement : variants ou biomarqueurs détectés pour lesquels l'utilisation prévue du diagnostic d'accompagnement est évaluée pour l'échantillon;
- les résultats génomiques dont l'importance clinique est avérée : variants détectés dont l'importance clinique (thérapeutique, pronostique ou diagnostique) est avérée à partir des renseignements figurant sur les étiquettes de médicaments approuvées par la FDA, les étiquettes de médicaments approuvées par l'EMA, les directives de pratique clinique de l'ASCO ou les directives de pratique clinique de l'ESMO pour le type de tumeur du patient, tel que spécifié par la base de connaissances²⁴;
- les résultats génomiques dont l'importance clinique est potentielle : variants détectés dont l'importance clinique (thérapeutique, pronostique ou diagnostique) est potentielle à partir des renseignements figurant sur les étiquettes de médicaments approuvées par la FDA, sur les étiquettes de médicaments approuvées par l'EMA, dans les directives de pratique clinique de l'ASCO ou dans les directives cliniques de l'ESMO dans un autre type de tumeur, ou correspondant aux critères d'admissibilité génomique et de type de tumeur pour participer à un essai clinique, ou pour lesquels la littérature médicale primaire a apporté des preuves d'une importance clinique potentielle pour le type de tumeur du patient, comme spécifié par la base de connaissances et le moteur de règles de soutien²⁴.

* ASCO, American Society of Clinical Oncology; EMA, Agence européenne des médicaments (European Medicines Agency); ESMO, Société européenne de médecine interne oncologique (European Society for Medical Oncology); FDA, Food and Drug Administration.

Solution validée

TSO Comprehensive (EU) est un test PGC validé, offrant une réponse directement à partir des échantillons, qui comprend des réactifs en trousse, un système de séquençage (tableau 7) et un logiciel d'analyse. Le test a été développé à l'aide d'un processus de contrôle de conception rigoureux et validé sur > 350 échantillons FFPE uniques et à partir de > 55 types de tumeurs différents. Les résultats ont été comparés à des méthodes orthogonales pour garantir des données précises, reproductibles et cohérentes.

Utilisation de TSO Comprehensive (EU)

TSO Comprehensive (EU) offre un flux de travail simplifié qui couvre toutes les étapes depuis l'entrée de l'échantillon jusqu'au rapport clinique final. Après un protocole de préparation de la librairie de 2 jours, les échantillons sont chargés sur une Flow Cell et dans le système de séquençage où le reste du test est entièrement automatisé, y compris le séquençage, l'appel des variants, l'interprétation et la création des rapports. L'ensemble du test, de l'extraction de l'acide nucléique au rapport clinique, ne prend que quatre jours (figure 1).

Tableau 7 : Études de vérification à l'aide de TSO Comprehensive (EU)

Études cliniques de précision et de transition pour la détection de la fusion des gènes <i>NTRK1</i> , <i>NTRK2</i> et <i>NTRK3</i>	Stabilité de librairie
Précision analytique	Limite de blanc
Marges de sécurité du flux de travail du test	Limite de détection
Contamination croisée	Évaluation des trousse d'extraction d'acide nucléique
Évaluation des contrôles externes	Stabilité en temps réel
Marges de sécurité pour le titrage d'entrée d'acide nucléique	Reproductibilité
Substances interférentes	Stabilité des tissus FFPE montés sur lame
Stabilité durant l'emploi de la trousse	Précision au sein du laboratoire
Stabilité du transport des trousse	

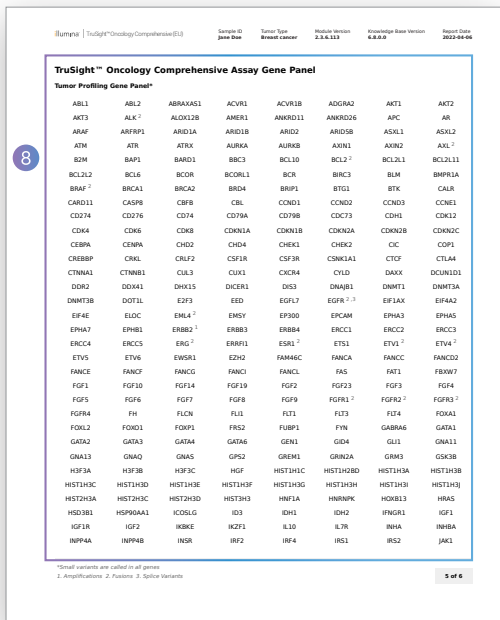
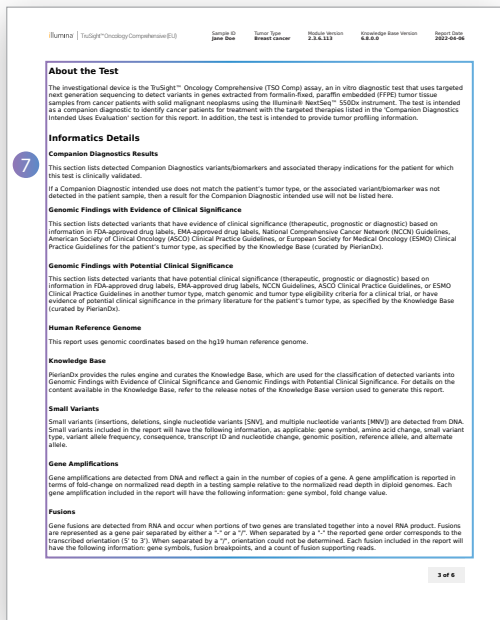
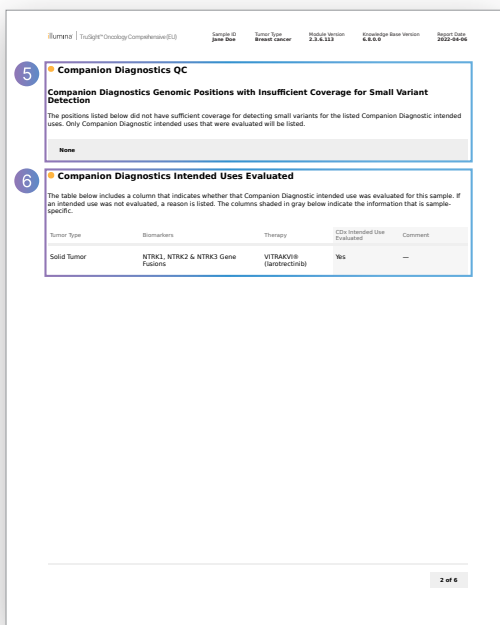
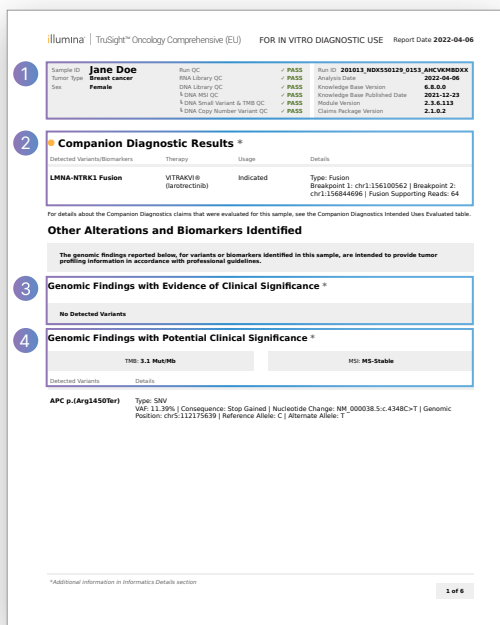


Figure 5 : Rapport clinique pour TSO Comprehensive – Les éléments signalés comprennent les résultats du diagnostic d'accompagnement et les variants signalés sont classés en « d'importance clinique avérée » ou « d'importance clinique potentielle » à partir d'une base de connaissances organisée par des experts éditeurs qui comprend des directives cliniques, des étiquettes de médicaments, des essais cliniques et des publications évaluées par des pairs. Les résultats faciles à lire sont destinés à accroître la confiance dans les décisions de traitement.

Préparation des bibliothèques

TSO Comprehensive (EU) peut utiliser l'ADN et l'ARN extraits simultanément du même échantillon comme matériel d'entrée. Si de l'ADN est utilisé, la préparation de l'échantillon commence par un découpage de l'ADN génomique (ADNg). Si de l'ARN est utilisé, la première étape est une transcription inversée de l'échantillon en ADNc. L'ADNg découpé et l'ADNc sont simultanément convertis en bibliothèques séquençables.

Pendant la préparation de bibliothèques, des identifiants moléculaires uniques (IMU)²⁵ sont ajoutés aux fragments d'ADNg ou d'ADNc. Ces IMU permettent la détection de fréquences alléliques de variants (FAV) basses tout en éliminant les erreurs, ce qui procure une spécificité élevée.

Enrichissement des bibliothèques pour concentrer les efforts

La préparation de bibliothèques est basée sur une chimie éprouvée de capture hybride utilisant des sondes biotinylées et des billes magnétiques enduites de streptavidine pour purifier les cibles sélectionnées à partir de bibliothèques d'ADN et d'ARN. Les régions d'intérêt sont hybridées aux sondes biotinylées, magnétiquement tirées vers le bas, puis éluées pour enrichir le groupe de bibliothèques. L'enrichissement de type hybridation est une stratégie pratique pour analyser des variants génétiques précis dans un échantillon donné et séquencer de manière fiable des exomes ou un grand nombre de gènes (c.-à-d. plus de 50 gènes).

La chimie de capture hybride offre plusieurs avantages par rapport au séquençage d'amplicons, notamment la production de données avec moins d'artefacts et d'abandons et la possibilité de s'adapter à un enrichissement de panel plus important. De plus, la chimie de capture hybride n'a pas d'incidence sur les fusions, ce qui permet la détection et la caractérisation des fusions connues et nouvelles.

Séquençage permettant d'établir des diagnostics

Les bibliothèques TSO Comprehensive (EU) préparées sont séquençées sur le système NextSeq 550Dx (figure 6). Le système NextSeq 550Dx est un instrument de DIV portant le marquage CE qui permet aux laboratoires cliniques de développer et d'effectuer des tests de DIV reposant sur le SNG. Fonctionnalités du système NextSeq 550Dx :

- Une configuration verrouillée avec contrôle des modifications permettant aux laboratoires de tirer parti des options de tests cliniques actuelles et futures
- Capacités à haut débit permettant d'étendre les opérations pour des études plus importantes et plus approfondies ou d'augmenter le nombre d'échantillons de patients analysés
- Analyse flexible allant du séquençage de petits panels aux études de puces à ADN en passant par les applications de séquençage du génome entier (SGE) et de SNG

Grâce aux cartouches de réactifs préremplies, pour lancer une analyse sur un instrument NextSeq 550Dx, il suffit de décongeler, charger et démarrer l'instrument, et la manipulation prend environ 30 minutes. L'interface intuitive permet aux utilisateurs de réaliser diverses applications en réduisant au minimum le temps de formation des utilisateurs et de configuration de l'instrument. L'instrument NextSeq 550Dx peut produire > 90 Gb de données de grande qualité avec plus de 75 % des bases séquençées affichant un score de qualité égal ou supérieur à Q30 en moins de deux jours²⁶.



Figure 6 : Le système NextSeq 550Dx – Développé sous contrôle de conception et fabriqué conformément aux directives des bonnes pratiques de fabrication (BPF), le système NextSeq 550Dx (en mode Dx) prend en charge un flux de travail TSO Comprehensive (EU) entièrement automatisé, du séquençage à la génération du rapport clinique final.

Débit des lots de patients

Grâce à l'utilisation de TSO Comprehensive (UE) avec le système NextSeq 550Dx, les laboratoires peuvent regrouper jusqu'à sept échantillons de patients[†] avec deux contrôles par analyse de séquençage en 4 à 5 jours.

[†] Le nombre d'échantillons de patients varie en fonction du nombre de contrôles exécutés.

Appel des variants, interprétation et génération de rapports

Toutes les analyses de TSO Comprehensive (EU) sont effectuées automatiquement sur le système NextSeq 550Dx à l'aide de Local Run Manager TruSight Oncology Comprehensive (EU) Analysis Module. Le module sur instrument facilite la configuration de l'analyse et effectue une analyse secondaire des résultats de séquençage, y compris le démultiplexage, la création de fichiers FASTQ, l'alignement et l'appel des variants :

- Le démultiplexage sépare les données regroupées basées sur les index de séquence unique qui ont été ajoutés au cours de la procédure de préparation de librairie.
- Les fichiers intermédiaires FASTQ contiennent les lectures de séquençage de chaque échantillon ainsi que les scores de qualité, à l'exclusion des lectures provenant de tout amplifiat n'ayant pas passé le filtre.
- Les lectures de séquençage sont alignées sur un génome de référence pour identifier une relation entre les séquences et un score leur est attribué en fonction des régions de similitude. Les lectures alignées sont écrites dans des fichiers au format Binary Alignment Map (BAM).
- Le système utilise des algorithmes distincts pour les bibliothèques générées à partir d'échantillons d'ADN et d'ARN pour appeler de petits variants d'ADN, des amplifications de gènes, des TMB et des MSI pour les échantillons d'ADN, et des fusions et des variants d'épissage pour les échantillons d'ARN avec une spécificité élevée.

Le module logiciel d'analyse génère plusieurs fichiers intermédiaires, notamment des indicateurs de séquençage et des fichiers Variant Call Format (VCF). Les fichiers VCF contiennent des renseignements sur les variants que l'on trouve à des positions spécifiques dans un génome de référence. Les indicateurs de séquençage et les fichiers de sortie individuels sont générés pour chaque échantillon.

L'analyse tertiaire, également effectuée par le Local Run Manager TruSight Oncology Comprehensive Analysis Module, comprend les calculs de TMB et de MSI, le profilage tumoral des variants en deux niveaux de signification clinique et la génération de rapports. Les résultats des variants interprétés, ainsi que les résultats des biomarqueurs TMB et MSI, sont résumés dans le rapport de résultats de TruSight Oncology Comprehensive. Les cliniciens peuvent utiliser le rapport cliniquement exploitable pour éclairer les décisions thérapeutiques conformément aux directives de pratique clinique, aux étiquettes des médicaments et aux essais cliniques.

Base de connaissances fiable sur le plan clinique

Le logiciel TSO Comprehensive (EU) est pris en charge par un moteur reposant sur des règles d'importance clinique et sur une base de connaissances mises à jour au fil du temps afin de maximiser l'exploitabilité des rapports. Le moteur de règles et la base de connaissances prise en charge, tous deux fournis par Velsera²⁷, couvrent de nombreuses publications évaluées par des pairs, les données exploitables sur les variants et les directives, étiquettes de médicaments et essais cliniques les plus récents (tableau 8, figure 7). Le logiciel TSO Comprehensive (EU) utilise ce riche contenu pour déterminer les classifications des variants génétiques détectés.

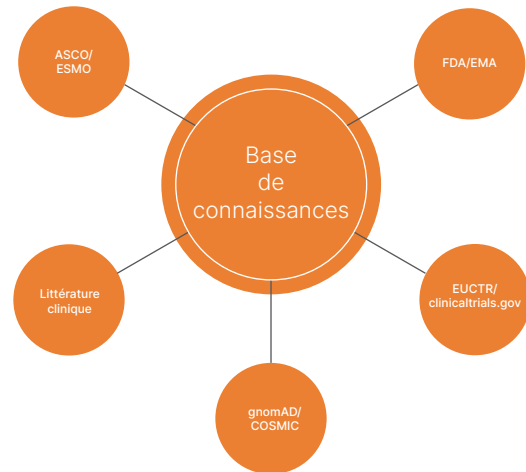


Figure 7 : Création de la base de connaissances – Le logiciel TSO Comprehensive (EU) Tumor Profiling est construit sur une série de règles largement révisées. Les règles sources, dérivées des directives de pratique clinique, des étiquettes des médicaments et de la littérature primaire, identifient et classent les variants exploitables. Les données des essais cliniques et des bases de données d'annotations biologiques sont des sources indépendantes et autonomes dans la base de connaissances.

Contenu et moteur de règles à la charge d'experts éditeurs

Pour fournir des interprétations précises des variants détectés, la base de connaissances s'appuie sur un moteur de règles (tous deux fournis par Velsera) qui associe des variants ou des biomarqueurs spécifiques aux affirmations de leurs retombées cliniques sur divers types de tumeurs. Ces affirmations sont agrégées à partir de diverses sources cliniques, y compris les directives de pratique clinique (provenant de l'ASCO, de l'ESMO), les étiquettes de médicaments (FDA, EMA), les registres d'essais cliniques (clinicaltrials.gov, EUCTR), de la littérature primaire décrivant les études cliniques (PubMed), et des bases de données d'annotations biologiques (gnomAD, COSMIC)[†] et peuvent avoir des associations thérapeutiques, pronostiques ou diagnostiques.

Les preuves à l'appui de ces affirmations, connues sous le nom de règles de source, sont organisées par une équipe de scientifiques hautement qualifiés et font l'objet d'un examen approfondi selon des procédures strictes. Après cet examen, les règles de source sont davantage examinées dans un processus d'ensemble de règles de CQ/AQ pour garantir l'intégrité de mise à jour des règles et pour s'assurer que tous les champs requis sont correctement remplis.

Tableau 8 : Données de la base de connaissances à compter de mars 2023^a

Sujet	En chiffres
Étiquettes de médicaments	Plus de 300 étiquettes passées en revue Plus de 13 000 pages lues
Directives	Plus de 300 directives sur les pratiques en oncologie passées en revue, toutes mises à jour de nombreuses fois chaque année, plus de 20 000 pages lues
Littérature publiée	Plus de 100 000 articles passés en revue Plus de 500 000 pages lues
Essais cliniques	Plus de 81 000 essais passés en revue
Conformité des dispositifs	Plus de 6 300 procédures, directives de travail, formulaires et dossiers passés en revue Plus de 65 000 pages lues

a. Le contenu est mis à jour par Velsera mensuellement pour incorporer les publications, les découvertes de biomarqueurs, les directives, les étiquettes de médicaments et les essais cliniques les plus récents²⁴.

† ASCO, American Society of Clinical Oncology; COSMIC, Catalogue of Somatic Mutations In Cancer; EMA, Agence européenne des médicaments; ESMO, Société européenne de médecine interne cancérologique; EUCTR, European Clinical Trials Registry; FDA, Food and Drug Administration; gnomAD, Genome Aggregation Database.

Les règles de source sont ensuite examinées, classées et sélectionnées en fonction de leur pertinence par rapport à une découverte génomique afin de développer des règles d'interprétation. Les paragraphes d'interprétation sont assemblés en fonction du contenu associé aux règles appropriées, et les paragraphes incluent également des références au matériel source.

Des processus de test et d'assurance de la qualité sont en place, afin de s'assurer que le contenu ajouté et conservé dans la base de connaissances est de haute qualité. Outre les examens décrits ci-dessus, les affirmations cliniques sont extraites à l'aide de flux de travail indépendants par des éditeurs formés qui ne font pas partie des équipes de règles de source ou de règles d'interprétation, puis la performance globale du logiciel de profilage tumoral et de la base de connaissances est évaluée pour en vérifier la concordance, la spécificité et la sensibilité. L'exactitude du contenu organisé est déterminée en comparant les classifications dérivées des métadonnées de la base de connaissances et du logiciel de profilage des tumeurs aux classifications précédemment signalées dans le référentiel de données cliniques Velsera. La base de connaissances fait l'objet d'un examen périodique par un groupe d'experts composé de professionnels de la santé agréés et certifiés, d'anatomopathologistes moléculaires et d'oncologues médicaux.

Une base de connaissances mise à jour est régulièrement mise à disposition²⁴ pour tenir compte des nouveaux biomarqueurs; des modifications apportées aux lignes directrices, aux étiquettes des médicaments et aux essais cliniques; et des études de recherche clinique récemment publiées. Les fournisseurs de tests de DIV peuvent facilement accéder aux nouvelles versions, maximisant ainsi leur capacité à extraire des renseignements exploitables de ce test PGC.

Haute performance et fiabilité

Les caractéristiques de performance et la fiabilité de TSO Comprehensive (EU) ont été largement testées pour répondre aux exigences rigoureuses des DIV. Les évaluations comprenaient une limite d'étude à blanc, des études de limite de détection (LdD) pour les variants d'ADN et d'ARN, la reproductibilité et la précision analytique (Annexe)¹³. Des études qualitatives sur plusieurs opérateurs, instruments, lots de réactifs et jours ont démontré une concordance élevée avec une variance minimale¹³. Pour obtenir des renseignements détaillés sur les études réalisées, reportez-vous à la notice d'accompagnement de TruSight Oncology Comprehensive (EU) d'Illumina¹³.

Intégration du PGC dans votre laboratoire

Le PGC maximise la capacité de trouver des biomarqueurs exploitables et d'éclairer les choix thérapeutiques susceptibles d'améliorer les résultats pour les patients. Doter un laboratoire du PGC vous permet :

- de fournir une médecine de précision, en mettant en œuvre un test de pointe et en générant des résultats cliniquement exploitables en 4 à 5 jours avec des taux de quantité insuffisante (QNS, Quantity not Sufficient) réduits et une amélioration du taux de réussite des tests;
- d'être prêt pour l'avenir en continuant à avoir accès aux fichiers de données brutes, ce qui vous permet de les réanalyser au fur et à mesure que de nouvelles directives, étiquettes de médicaments et essais cliniques sont introduits, en créant potentiellement de nouvelles données exploitables;
- d'être un partenaire de confiance en conseillant les oncologues sur les meilleures décisions thérapeutiques et en participant aux comités des tumeurs en oncologie moléculaire.

Mise en œuvre facilitée

La mise en œuvre d'un test PGC peut nécessiter beaucoup de temps et d'efforts. Avec l'introduction de TSO Comprehensive (EU), Illumina a relevé certains des plus grands défis, en facilitant le processus. Une solution de DIV en trousse largement validée, portant le marquage CE :

- réduit le temps et les dépenses de mise en œuvre du test par rapport à un test développé en laboratoire (LDT, Laboratory-developed Test) ([figure 8](#));
- accélère le passage au PGC en transformant une « nouvelle » offre en un test de routine; et
- offre un test conforme à la directive de diagnostic *in vitro* (DDIV) qui est en passe de répondre aux exigences de la réglementation de diagnostic *in vitro* (RDIV), ce qui aidera les laboratoires à se préparer à respecter les futures directives réglementaires plus strictes.

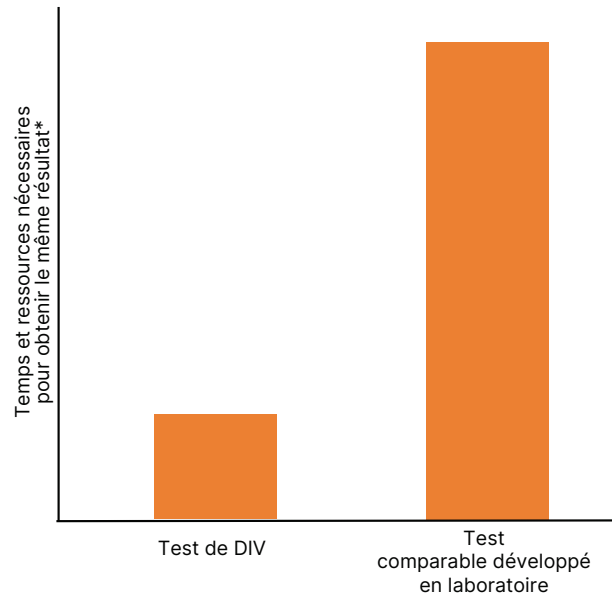


Figure 8 : Mise en œuvre plus simple et moins fastidieuse des tests – TSO Comprehensive (EU) est un test de DIV portant le marquage CE qui ne nécessite qu'une vérification de la performance ISO 15189, ce qui est moins fastidieux que la validation requise pour un test développé en laboratoire.

* Exemple illustratif. Ne vise pas à fournir une comparaison précise du temps et des ressources.

Assistance complète

Un programme d'assistance complet est disponible et collaborera avec les laboratoires pour accélérer la mise en œuvre et la certification afin d'assurer une intégration en douceur. Le programme fournit :

- Plan d'intégration pour accélérer la vérification des tests
- Formation en laboratoire, y compris l'instruction en laboratoire humide et l'évaluation de l'exécution par l'équipe de spécialistes des applications sur le terrain d'Illumina
- Protocole de vérification
- Certificat de formation
- Assistance technique 24 h/24 et 5 j/7
- Soutien continu de l'équipe des Affaires médicales d'Illumina pour les demandes médicales

En outre, Illumina fournit aux utilisateurs du DIV un accès à des ressources commerciales et éducatives prêtes à l'emploi qu'ils pourront partager avec leurs prestataires de soins de santé locaux pour les aider à comprendre la valeur des tests PGC.

Accès au remboursement

La couverture des tests PGC est une considération importante lors de l'intégration de cette technologie à l'interne. Le remboursement diffère selon le pays, le milieu clinique et les services fournis. Actuellement, un financement national ou régional est disponible dans quelques pays européens (figure 9). Illumina a mis en place une équipe dédiée à l'accès au marché qui travaille activement avec les payeurs pour étendre davantage le remboursement des tests PGC à travers le monde.

Discutez des options de couverture disponibles avec votre gestionnaire de compte Illumina local.

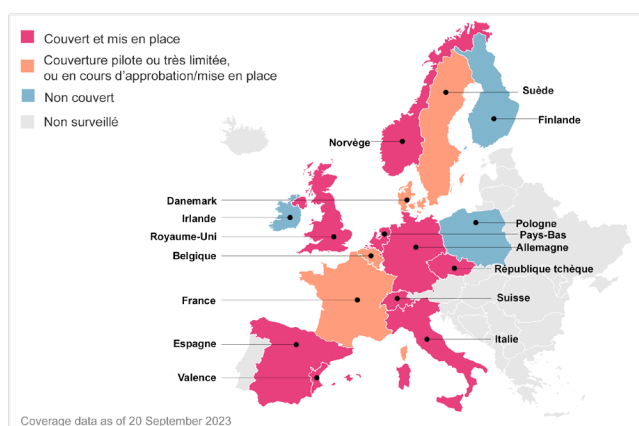


Figure 9 : Options de couverture des tests PGC en Europe – Données à jour au 20 septembre 2023.

Résumé

L'utilisation de tests PGC conduit à de meilleurs résultats pour les patients. La mise en œuvre des tests PGC dans votre laboratoire est plus simple grâce à TSO Comprehensive (EU). Ce test PGC vérifié fournit un flux de travail simplifié, des réactifs validés et un logiciel clinique automatisé pour passer de l'échantillon au rapport clinique en 4 à 5 jours. À partir de l'ADN et de l'ARN, utilisez TSO Comprehensive (EU) pour analyser plusieurs types de variants dans plus de 500 gènes en un seul test. Élaborez un rapport final clair et pertinent sur le plan clinique qui identifie avec précision les mutations exploitables qui peuvent être utilisées pour éclairer les décisions concernant les thérapies ou les essais cliniques potentiels, selon des sources reconnues, qui pourraient améliorer les résultats pour les patients.

En savoir plus

TruSight Oncology Comprehensive (EU), illumina.com/tsocomprehensive

Profilage génomique complet (PGC), illumina.com/cgp

Système NextSeq 550Dx, illumina.com/nextseq550dx

Renseignements sur la commande

Produit	N° de référence
TruSight Oncology Comprehensive (EU) Kit	20063092
TruSight Oncology DNA Control	20065041
TruSight Oncology RNA Control	20065042
Instrument NextSeq 550Dx	20005715
Trousse de réactifs à débit élevé NextSeq 550Dx v2.5 (300 cycles) ^a	20028871

a. Les consommables de séquençage de classe I comprennent l'expédition en lot unique, le contrôle des lots de trousse, les préavis de modification et un certificat d'analyse pour chaque lot. Les réactifs sont développés selon des principes de contrôle de la conception, fabriqués en conformité avec les normes Current Good Manufacturing Practices (cGMP) américaines et vérifiés pour assurer la conformité avec les caractéristiques techniques.

Annexe

Limite d'étude à blanc

Petit nombre de faux positifs pour TSO Comprehensive (EU)

Paramètre	Valeur
Faux positifs pour les petits variants d'ADN	0,0001 %
Faux positifs pour les amplifications de gènes	0 %
Faux positifs pour la MSI	0 %
Faux positifs pour les fusions d'ARN	0 %
Faux positifs pour les variants d'épissage d'ARN	0 %

Les taux de faux positifs ont été évalués grâce à une limite d'étude à blanc utilisant des échantillons FFPE normaux ou bénins de tissus adjacents. Les faux positifs n'ont pas été analysés pour la TMB, car il n'y a pas de valeur seuil clinique.

Études sur la limite de détection (LdD)

LdD – variants d'épissage

Variant d'épissage	LdD
<i>MET</i>	18,7
<i>EGFR</i>	24,8

Des échantillons FFPE de 17 types de tissus contenant des variants ont été dilués à plusieurs niveaux de test. Deux opérateurs différents ont effectué six observations pour chaque niveau à l'aide d'un lot de réactifs et d'un instrument différents. La LdD est définie comme la valeur d'analyte la plus basse (par exemple, la fréquence allélique d'un variant ou les lectures de support) qui peut être détectée de manière cohérente (limite de détection de 95 % ou erreur de type II de 5 %).

LdD – Fusions d'ARN et variants d'épissage

Fusion	LdD
<i>NCOA4-RET</i>	10
<i>TMPRSS2-ERG</i>	13,2
<i>KIF5B-RET</i>	14,5
<i>ACPP-ETV1</i>	17,2
<i>FGFR3-TACC3</i>	17,5
<i>EML4-ALK</i>	20,2
<i>FGFR1-GSR</i>	23,7
<i>EGFR-GALNT13</i>	24
<i>ESR1-CCDC170</i>	24,3
<i>FGFR2-SRPK2</i>	24,7
<i>HNRNPUL1-AXL</i>	26,3
<i>CD74-ROS1;GOPC</i>	28,2
<i>SPIDR-NRG1</i>	28,2
<i>RAF1-VGLL4</i>	28,5
<i>DHX8;ETV4-STAT3</i>	30,5
<i>MKRN1-BRAF</i>	31,2
<i>BCL2-IGHJ5</i>	44,2
<i>PAX3-FOXO1</i>	54,7

Des échantillons FFPE de 17 types de tissus contenant des variants ont été dilués à plusieurs niveaux de test. Deux opérateurs différents ont effectué six observations pour chaque niveau à l'aide d'un lot de réactifs et d'un instrument différents. La LdD est définie comme la valeur d'analyte la plus basse (par exemple, la fréquence allélique d'un variant ou les lectures de support) qui peut être détectée de manière cohérente (limite de détection de 95 % ou erreur de type II de 5 %).

LdD – petits variants d’ADN et amplifications géniques

Type (unité de mesure de la LdD)	Classe de variant/ contenu génomique	Nbre de variants	Plage
Petits variants d’ADN (Fréquence allélique du variant)	SNV	5	0,016 à 0,064
	MNV	3	0,022 à 0,048
	Insertion (1 à 2 pb) près de répétitions d’homopolymères	2	0,086 à 0,104
	Insertion (1 à 2 pb) près des répétitions de dinucléotides	2	0,038 à 0,051
	Insertion (3 à 5 pb)	2	0,030 à 0,056
	Insertion (> 5 pb et jusqu’à 25 pb)	3	0,034 à 0,215
	Suppression (1 à 2 pb) près de répétitions d’homopolymères	2	0,094 à 0,100
	Suppression (1 à 2 pb) près des répétitions de dinucléotides	2	0,033 à 0,070
	Suppression (3 à 5 pb)	2	0,028 à 0,064
	Suppression (> 5 pb et jusqu’à 25 pb)	2	0,047 à 0,055
Amplifications géniques (modification de facteur)	Par gène (<i>ERBB2</i> , <i>MET</i>)	2	2,034 à 2,195

Des échantillons FFPE de 17 types de tissus contenant des variants ont été dilués à plusieurs niveaux de test. Deux opérateurs différents ont effectué six observations pour chaque niveau à l’aide d’un lot de réactifs et d’un instrument différents. La LdD est définie comme la valeur d’analyse la plus basse (par exemple, la fréquence allélique d’un variant ou les lectures de support) qui peut être détectée de manière cohérente (limite de détection de 95 % ou erreur de type II de 5 %).

Reproductibilité pour les études de profilage des tumeurs

Reproductibilité pour le profilage de tumeurs – Amplifications géniques

Gène ciblé	Facteur de modification moyen ^a	PAP	IC à 95 % ^b
<i>MET</i>	5,14	100,0 %	92,6 %, 100,0 %
<i>ERBB2</i>	2,33	100,0 %	92,4 %, 100,0 %

La reproductibilité a été testée sur trois sites (un interne, deux externes), deux opérateurs par site, trois lots de réactifs, quatre jours de test et diverses analyses de séquençage par librairie en utilisant 41 échantillons de tissus FFPE et une lignée cellulaire. PAP, pourcentage d’appels positifs; IC, intervalle de confiance

- a. Facteur de multiplication moyen calculé des résultats obtenus lors des tests.
- b. IC bilatéral de 95 % calculé par la méthode du score de Wilson.

Reproductibilité pour le profilage des tumeurs – MSI

Élément du panel	Score MSI moyen ^a	PAP	IC à 95 % ^b
<i>TPSBD4</i>	60,5	100,0 % (36/36)	90,4 %, 100,0 %
<i>TPSBD6</i>	55,7	100,0 % (32/32)	89,3 %, 100,0 %
Tous les éléments		100,0 % (68/68)	94,7 %, 100,0 %

La reproductibilité a été testée sur trois sites (un interne, deux externes), deux opérateurs par site, trois lots de réactifs, quatre jours de test et diverses analyses de séquençage par librairie en utilisant 41 échantillons de tissus FFPE et une lignée cellulaire. PAP, pourcentage d’appels positifs; IC, intervalle de confiance

- a. Score MSI moyen calculé des résultats obtenus lors des tests.
- b. IC bilatéral de 95 % calculé par la méthode du score de Wilson.

Reproductibilité pour le profilage des tumeurs – Petits variants d'ADN

Gène	Type de variant	Variant ciblé (acide aminé)	FAV moyenne ^a	PAP	IC à 95 % ^b
APC	Suppression	L1488fsTer19	0,181	100,0 % (28/28)	87,9 %, 100,0 %
APC	Suppression	S1465WfsTer3	0,166	100,0 % (40/40)	91,2 %, 100,0 %
APC	Insertion	T1556NfsTer3	0,227	100,0 % (32/32)	89,3 %, 100,0 %
APC	Insertion	S1465fs*9	0,100	100,0 % (48/48)	92,6 %, 100,0 %
ARID1A	Insertion	Q372fs*28	0,084	100,0 % (4/4)	51,0 %, 100,0 %
BRAF	SNV	V600E	0,045	91,3 % (42/46)	79,7 %, 96,6 %
EGFR	Suppression	E746_A750del	0,112	100,0 % (46/46)	92,3 %, 100,0 %
EGFR	SNV	L858R	0,045	100,0 % (38/38)	90,8 %, 100,0 %
EP300	Suppression	H2324fs*29	0,245	100,0 % (44/44)	92,0 %, 100,0 %
ERBB2	Insertion	Y772_A775dup	0,075	100,0 % (36/36)	90,4 %, 100,0 %
IDH1	SNV	R132H	0,155	100,0 % (36/36)	90,4 %, 100,0 %
KRAS	MNV	G12I	0,111	100,0 % (38/38)	90,8 %, 100,0 %
NOTCH1	Insertion	R1598fs*12	0,146	100,0 % (48/48)	92,6 %, 100,0 %
PTEN	Suppression	T319fs*1	0,157	100,0 % (44/44)	92,0 %, 100,0 %
TP53	Insertion	P152_P153dup	0,157	100,0 % (2/2)	34,2 %, 100,0 %
TP53	Insertion	R333HfsTer5	0,154	100,0 % (48/48)	92,6 %, 100,0 %

La reproductibilité a été testée sur trois sites (un interne, deux externes), deux opérateurs par site, trois lots de réactifs, quatre jours de test et diverses analyses de séquençage par librairie en utilisant 41 échantillons de tissus FFPE et une lignée cellulaire. FAV, fréquence allélique du variant, PAP, pourcentage d'appels positifs; IC, intervalle de confiance

a. FAV moyenne calculée à partir des résultats obtenus lors des tests.

b. IC bilatéral de 95 % calculé par la méthode du score de Wilson.

Reproductibilité pour le profilage des tumeurs – Variants d’ARN

Variant ciblé	Type de variant	Lectures de support moyennes	PAP	IC à 95 % ^b
<i>ACPP-ETV1</i>	Fusion	44,7	100,0 % (46/46)	92,3 %, 100,0 %
<i>BCL2-IGHJ5</i>	Fusion	124,9	100,0 % (46/46)	92,3 %, 100,0 %
<i>CD74-ROS1;GOPC</i>	Fusion	56,6	100,0 % (48/48)	92,6 %, 100,0 %
<i>DHX8;ETV4-STAT3</i>	Fusion	48,9	100,0 % (46/46)	92,3 %, 100,0 %
<i>EGFR-GALNT13</i>	Fusion	49,8	100,0 % (46/46)	92,3 %, 100,0 %
<i>EML4-ALK</i>	Fusion	49,3	100,0 % (48/48)	92,6 %, 100,0 %
<i>ESR1-CCDC170</i>	Fusion	45,1	100,0 % (46/46)	92,3 %, 100,0 %
<i>FGFR1-GSR</i>	Fusion	61,1	100,0 % (46/46)	92,3 %, 100,0 %
<i>FGFR2-SRPK2</i>	Fusion	53,4	100,0 % (48/48)	92,6 %, 100,0 %
<i>FGFR3-TACC3</i>	Fusion	53,5	100,0 % (48/48)	92,6 %, 100,0 %
<i>HNRNPUL1-AXL</i>	Fusion	58,0	100,0 % (48/48)	92,6 %, 100,0 %
<i>KIF5B-RET</i>	Fusion	11,6	91,7 % (44/48)	80,4 %, 96,7 %
<i>MKRN1-BRAF</i>	Fusion	33,4	100,0 % (48/48)	92,6 %, 100,0 %
<i>PAX3-FOXO1</i>	Fusion	70,1	100,0 % (48/48)	92,6 %, 100,0 %
<i>RAF1-VGLL4</i>	Fusion	15,9	100,0 % (46/46)	92,3 %, 100,0 %
<i>SPIDR-NRG1</i>	Fusion	51,5	100,0 % (48/48)	92,6 %, 100,0 %
<i>TMPRSS2-ERG</i>	Fusion	43,5	97,9 % (47/48)	89,1 %, 99,6 %
<i>EGFR VIII</i>	Variant d'épissage	64,0	100,0 % (46/46)	92,3 %, 100,0 %
<i>Saut de l'exon 14 de MET</i>	Variant d'épissage	61,2	100,0 % (48/48)	92,6 %, 100,0 %

La reproductibilité a été testée sur trois sites (un interne, deux externes), deux opérateurs par site, trois lots de réactifs, quatre jours de test et diverses analyses de séquençage par librairie en utilisant 41 échantillons de tissus FFPE et une lignée cellulaire. Le pourcentage d'appels négatifs (PAN) était de 100 % pour chaque variant d'ARN ciblé, à l'exception de la fusion *FGFR2-SRPK2* (PAN = 99,60 % [984/988; IC de 95 % : 98,96 % à 99,84 %]). PAP, pourcentage d'appels positifs; IC, intervalle de confiance

a. Lectures de support moyennes calculées à partir des résultats observés lors des tests.

b. IC bilatéral de 95 % calculé par la méthode du score de Wilson.

Études de la précision analytique

Précision analytique – Variants d’ADN et MSI

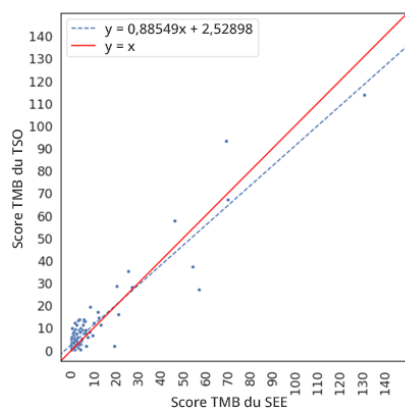
Type de variant	Méthode orthogonale	CPP	CNP
Petits variants d’ADN (somatiques)	WES	85 % (358/451) (IC à 95 % : 81 % à 87 %)	99,999 % (70 000 481/70 000 907) (IC à 95 % : 99,999 % à 99,999 %)
Petits variants d’ADN (germinaux)	WES	99,8 % (33 163/33 224) (IC à 95 % : 99,8 %, 99,9 %)	99,999 % (70 000 481/70 000 907) (IC à 95 % : 99,999 % à 99,999 %)
Amplifications géniques	WES	92 % (337/365) (IC à 95 % : 89 %, 95 %)	98,3 % (24 000/24 415) (IC à 95 % : 98,1 %, 98,5 %)
MSI	MSI-PCR	93 % (40/43) (IC à 95 % : 81 %, 98 %)	99 % (150/152) (IC à 95 % : 95 %, > 99 %)

La capacité de TSO Comprehensive (EU) à détecter des altérations dans des centaines d’échantillons FFPE a été comparée aux résultats obtenus avec la méthode de référence indiquée. Au moins 48 % des variants somatiques détectés par TSO Comprehensive (EU) n’ont pas été détectés par le séquençage de l’exome entier (SEE) en raison de fréquences alléliques inférieures au seuil de SEE. Les données de SEE ont également montré la présence de variants supplémentaires détectés par TSO Comprehensive (EU), mais avec une faible prise en charge des appels de SEE. Cela suggère que ces variants n’ont pas été détectés par le SEE dans la tumeur en raison d’une contamination normale. CNP, concordance négative en pourcentage; CPP, concordance positive en pourcentage; SEE, séquençage d’un exome entier

Précision analytique – Variants d’ARN

Type de variant	Méthode orthogonale	CPP	CNP
Fusions	<ul style="list-style-type: none"> • Séquençage d’un exome entier d’ARN (RNGS1) • Panel de fusion de SNG ciblé (RNGS2) • PCR numérique à gouttelettes (PCRng) 	82 % (63/77) (IC à 95 % : 72 %, 89 %)	99,9 % (13 821/13 839) (IC de 95 % : 99,8 %, 99,9 %)
Variants d’épissage	qPCR	57 % (4/7) (IC à 95 % : 25 %, 84 %)	100 % (230/230) (IC à 95 % : 98 %, 100 %)

La capacité de TSO Comprehensive (EU) à détecter des altérations dans des centaines d’échantillons FFPE a été comparée aux résultats obtenus avec la méthode de référence indiquée. TSO Comprehensive (EU) a détecté 41 fusions non détectées par les méthodes orthogonales. La LdD pour le RNGS1 était de 4 à 8 fois celle de TSO Comprehensive (EU), ce qui a incité à utiliser des méthodes supplémentaires de plus grande sensibilité, mais moins étendues quant aux fusions. 41 fusions supplémentaires confirmées détectées par TSO Comprehensive à l’aide de la PCRng. Les scores de CPP et CNP pour les fusions représentent une combinaison des trois méthodes orthogonales. Trois échantillons qui ont été positifs pour les suppressions de l’exon 14 de MET par qPCR mais pas par TSO Comprehensive (EU) avaient un Ct moyen > 37, ce qui est inférieur au niveau de LdD de TSO Comprehensive (EU). CNP, concordance négative en pourcentage; CPP, concordance positive en pourcentage; RNGS, séquençage de nouvelle génération de l’ARN (RNA next-generation sequencing).



Précision analytique – TMB – La capacité de TSO Comprehensive (EU) à détecter la TMB dans > 100 échantillons FFPE a été comparée aux résultats obtenus avec le séquençage de l’exome entier (SEE). Les résultats indiquent une corrélation de Pearson de 0,94.

Références

- Zehir A, Benayed R, Shah RH, et al. [Mutational landscape of metastatic cancer revealed from prospective clinical sequencing of 10,000 patients.](#) *Nat Med.* 2017;23(6):703-713. doi:10.1038/nm.4333
- Soumerai TE, Donoghue MTA, Bandlamudi C, et al. [Clinical Utility of Prospective Molecular Characterization in Advanced Endometrial Cancer.](#) *Clin Cancer Res.* 2018;24(23):5939-5947. doi:10.1158/1078-0432.CCR-18-0412
- Gutierrez ME, Choi K, Lanman RB, et al. [Genomic Profiling of Advanced Non-Small Cell Lung Cancer in Community Settings: Gaps and Opportunities.](#) *Clin Lung Cancer.* 2017;18(6):651-659. doi:10.1016/j.clcc.2017.04.004
- Singal G, Miller PG, Agarwala V, et al. [Association of Patient Characteristics and Tumor Genomics With Clinical Outcomes Among Patients With Non-Small Cell Lung Cancer Using a Clinicogenomic Database.](#) *JAMA.* 2019;321(14):1391-1399. doi:10.1001/jama.2019.3241
- Kato S, Kim KH, Lim HJ, et al. [Real-world data from a molecular tumor board demonstrates improved outcomes with a precision N-of-One strategy.](#) *Nat Commun.* 2020;11:4965 (2020). doi.org/10.1038/s41467-020-18613-3
- Rozenblum AB, Ilouze M, Dudnik E, et al. [Clinical Impact of Hybrid Capture-Based Next-Generation Sequencing on Changes in Treatment Decisions in Lung Cancer.](#) *J Thorac Oncol.* 2017;12(2):258-268. doi:10.1016/j.jtho.2016.10.021
- U.S. Food & Drug Administration. FDA approves pembrolizumab for adults and children with TMB-H solid tumors. Site Web de la FDA. [fda.gov/drugs/drug-approvals-and-databases/fda-approves-pembrolizumab-adults-and-children-tmb-h-solid-tumors](https://www.fda.gov/drugs/drug-approvals-and-databases/fda-approves-pembrolizumab-adults-and-children-tmb-h-solid-tumors). Publié le 17 juin 2020. Consulté le 7 octobre 2020.
- Tray N, Weber JS, Adams S. [Predictive Biomarkers for Checkpoint Immunotherapy: Current Status and Challenges for Clinical Application.](#) *Cancer Immunol Res.* 2018;6(10):1122-1128. doi:10.1158/2326-6066.CIR-18-0214
- Samstein RM, Lee CH, Shoushtari AN, et al. [Tumor mutational load predicts survival after immunotherapy across multiple cancer types.](#) *Nat Genet.* 2019;51(2):202-206. doi.org/10.1038/s41588-018-0312-8
- U.S. Food & Drug Administration. FDA Approves First-Line Immunotherapy for Patients with MSI-H/bMMR Metastatic Colorectal Cancer. Site Web de la FDA. [fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-line-immunotherapy-patients-msi-h-dmrr-metastatic-colorectal-cancer](https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-line-immunotherapy-patients-msi-h-dmrr-metastatic-colorectal-cancer). Publié le 29 juin 2020. Consulté le 7 octobre 2020.
- Illumina and Loxo Oncology to Partner on Developing Next-Generation Sequencing-Based Pan-Cancer Companion Diagnostics. [businesswire.com/news/home/20180410005649/en/](https://www.businesswire.com/news/home/20180410005649/en/). Publié le 10 avril 2018. Consulté le 22 février 2021.
- À la conclusion de l'accord avec Lilly, Bayer obtient tous les droits sur le Vitrakvi de Loxo. [biopharmadive.com/news/as-lilly-deal-closes-bayer-secures-full-rights-to-loxos-vitrakvi/548584/](https://www.biopharmadive.com/news/as-lilly-deal-closes-bayer-secures-full-rights-to-loxos-vitrakvi/548584/). Publié le 15 février 2019. Consulté le 22 février 2021.
- Illumina. Notice d'accompagnement de TruSight Oncology Comprehensive. support.illumina.com/sequencing/sequencing_kits/trusight-oncology-comprehensive.html. Consulté le 25 mai 2022.
- Roche, partenaire d'Illumina sur le séquençage de nouvelle génération DIV, le développement de CDx, le marketing. [genomeweb.com/businessnews/roche-illumina-partner-next-generation-sequencingivd-cdx-development-marketing#.YWhVkhMKUk](https://www.genomeweb.com/businessnews/roche-illumina-partner-next-generation-sequencingivd-cdx-development-marketing#.YWhVkhMKUk). Publié le 13 janvier 2020. Consulté le 22 février 2021.
- Illumina annonce de nouveaux partenariats d'oncologie étendus avec Bristol Myers Squibb, Kura Oncology, Myriad Genetics et Merck pour faire progresser le profilage génomique complet. [businesswire.com/news/home/20210111005930/en/Illumina-Announces-New-and-Expanded-Oncology-Partnerships-with-Bristol-Myers-Squibb-Kura-Oncology-Myriad-Genetics-and-Merck-to-Advance-Comprehensive-Genomic-Profilng](https://www.businesswire.com/news/home/20210111005930/en/Illumina-Announces-New-and-Expanded-Oncology-Partnerships-with-Bristol-Myers-Squibb-Kura-Oncology-Myriad-Genetics-and-Merck-to-Advance-Comprehensive-Genomic-Profilng). Publié le 11 janvier 2021. Consulté le 22 février 2021.
- Illumina s'associe à Merck pour développer et commercialiser des tests de diagnostic d'accompagnement et de recherche à utiliser dans l'identification de mutations spécifiques du cancer. [prnewswire.com/news-releases/illumina-partners-with-merck-to-develop-and-commercialize-companion-diagnostic-and-research-tests-for-use-in-identifying-specific-cancer-mutations-301369838.html](https://www.prnewswire.com/news-releases/illumina-partners-with-merck-to-develop-and-commercialize-companion-diagnostic-and-research-tests-for-use-in-identifying-specific-cancer-mutations-301369838.html). Publié le 7 septembre 2021. Consulté le 14 octobre 2021.
- Illumina. Illumina et Kartos Therapeutics annoncent un nouveau partenariat d'oncologie pour développer un diagnostic d'accompagnement TP53 basé sur le SNG. [illumina.com/company/news-center/press-releases/2021/12b6e4a6-3f52-407e-8200-8fa72712a980.html](https://www.illumina.com/company/news-center/press-releases/2021/12b6e4a6-3f52-407e-8200-8fa72712a980.html). Publié en 2021. Consulté le 9 février 2024.
- Mayo Clinic Laboratories. EGFR - Specimen: EGFR Gene, Mutation Analysis, 29 Mutation Panel, Tumor. Site Web de Mayo Clinic Laboratories. [mayocliniclabs.com/test-catalog/Specimen/35404](https://www.mayocliniclabs.com/test-catalog/Specimen/35404). Consulté le 9 février 2021.
- ARUP Laboratories. EGFR Mutation Detection by PyroSequencing. Site Web d'ARUP Laboratories. [ltd.aruplab.com/Tests/Pub/2002440](https://www.ltd.aruplab.com/Tests/Pub/2002440). Consulté le 9 février 2021.
- Abbott. Trousse de sondes de séparation FISH Vysis ALK. [molecular.abbott/sal/en-us/staticAssets/ALK-US-CE-Clinical-PI_R3_mw001_3060.pdf](https://www.molecular.abbott/sal/en-us/staticAssets/ALK-US-CE-Clinical-PI_R3_mw001_3060.pdf). Consulté le 9 février 2021.
- NeoGenomics Laboratories. MET Exon 14 Deletion Analysis | NeoGenomics Laboratories. Site Web de NeoGenomics Laboratories. [neogenomics.com/test-menu/met-exon-14-deletion-analysis](https://www.neogenomics.com/test-menu/met-exon-14-deletion-analysis). Consulté le 9 février 2021.

22. Geisinger Medical Laboratories. Specimen collection and processing instructions for BRAF MUTATION ANALYSIS. Site Web de Geisinger Medical Laboratories. [geisingermedicalabs.com/catalog/details.cfm](https://www.geisingermedicalabs.com/catalog/details.cfm). Consulté le 9 février 2021.
23. Geisinger Medical Laboratories. Specimen collection and processing instructions for KRAS MUTATION ANALYSIS. Site Web de Geisinger Medical Laboratories. [geisingermedicalabs.com/catalog/details.cfm](https://www.geisingermedicalabs.com/catalog/details.cfm). Consulté le 9 février 2021.
24. Analyse courtoise de Velsera et réalisée à partir de la base de connaissances de TSO Comprehensive (EU). À jour en mars 2023.
25. Illumina. TruSight Oncology UMI Reagents. Site Web d'Illumina. <https://www.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/datasheets/trusight-oncology-umi-reagents-datasheet-1000000050425.pdf>. Consulté le 9 février 2021.
26. Illumina. Instrument NextSeq 550Dx. Disponible sur le site <https://science-docs.illumina.com/documents/Instruments/nextseq-550dx-instrument-spec-sheet-1000000062591/nextseq-550dx-instrument-spec-sheet-1000000062591.pdf>. Consulté le 9 février 2021.
27. Velsera. Genomic Knowledge Base for Clinical Next-Generation Knowledge. Site Web de Velsera. [pieriandx.com/genomic-knowledge-base](https://www.pieriandx.com/genomic-knowledge-base). Consulté le 2 octobre 2023.

Déclaration relative à l'utilisation prévue

TruSight Oncology Comprehensive (UE) est un test de diagnostic *in vitro* qui utilise un séquençage ciblé de nouvelle génération pour détecter les variants de 517 gènes à l'aide d'acides nucléiques extraits d'échantillons de tissus tumoraux fixés au formol et imprégnés à la paraffine (FFPE, Formalin-fixed, paraffin-embedded) de patients cancéreux atteints de tumeurs malignes solides en utilisant l'instrument Illumina^{MD} NextSeq^{MC} 550Dx. Ce test peut être utilisé pour détecter des variants mononucléotidiques, des variants multinucléotidiques, des insertions, des suppressions et des amplifications de gènes à partir d'ADN, ainsi que des fusions de gènes et des variants d'épissage à partir d'ARN. Ce test établit également un score de charge mutationnelle tumorale (TMB) et un statut d'instabilité des microsatellites (MSI).

Le test est destiné à être utilisé en tant que diagnostic d'accompagnement pour identifier les patients souffrant de cancer pour un traitement avec la thérapie ciblée répertoriée dans le **tableau 9**, conformément à l'étiquetage du produit thérapeutique approuvé. En outre, ce test est destiné à fournir des renseignements sur le profilage tumoral à l'usage des professionnels de la santé qualifiés conformément aux directives professionnelles et n'est ni concluant, ni ne sert de prescription pour l'utilisation d'un produit thérapeutique spécifique.

Tableau 9 : Indications de diagnostic d'accompagnement

Type de tumeur	Biomarqueurs	Thérapie ciblée
Tumeurs solides	<i>NTRK1, NTRK2, NTRK3</i> Fusions de gènes	VITRAKVI (larotrectinib)



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-00069 FRA v5.0