

TruSight™ Whole Genome

Una solución validada,
flexible y compatible con IVDR
para la secuenciación clínica
del genoma completo

- Facilita la adopción de la WGS para las pruebas diagnósticas clínicas con un flujo de trabajo completo de ADN a VCF.
- Aprovecha la química de preparación de librerías sin PCR para lograr un sesgo mínimo y una uniformidad de cobertura superior.
- Proporciona una llamada de variantes de línea germinal muy precisa para diversas aplicaciones clínicas posteriores.
- Garantiza un rendimiento óptimo con controles analíticos, incluidos los criterios de medición de CC de experimentos y muestras, sin necesidad de controles de lotes externos.



Introducción

Los métodos tradicionales para las pruebas clínicas, incluidos la PCR y el microarray cromosómico, tienen una utilidad limitada en su capacidad para detectar variantes genéticas asociadas a la enfermedad. Los métodos de secuenciación de nueva generación (NGS, next-generation sequencing), incluida la secuenciación del genoma completo (WGS), están impulsando avances en las pruebas genéticas clínicas, lo que permite acelerar los diagnósticos. Sin embargo, las pruebas de un solo gen y los paneles de NGS multigénicos son enfoques selectivos, de alcance limitado y pueden pasar por alto variantes procesables. Además, estos métodos pueden quedarse obsoletos a medida que se realizan nuevas asociaciones entre genes y enfermedades, lo que obliga a los laboratorios clínicos a realizar ciclos de modificación y validación de nuevas pruebas que requieren mucho tiempo.

La WGS proporciona la perspectiva más completa del genoma humano y, a menudo, incluye regiones que no se alcanzan con otros métodos. La WGS sin PCR permite el análisis simultáneo de miles de genes con asociaciones conocidas o presuntas de enfermedades y el descubrimiento de nuevas variantes causantes.

En el caso de los laboratorios clínicos que realizan la transición o incorporan un ensayo genómico compatible con el Reglamento de Diagnóstico *In Vitro* (IVDR, In Vitro Diagnostic Regulation) de la Unión Europea (UE), Illumina ofrece TruSight Whole Genome. Este ensayo ofrece un flujo de trabajo completo de formato de llamada de ADN a variante (VCF) para la WGS clínica (figura 1). Esta solución de análisis de laboratorio húmedo a secundario agiliza la validación de ensayos con controles internos, llamadas de variantes automatizadas y estudios de validación analítica.

Perspectiva completa de la variación genómica

La WGS supera las limitaciones de contenido de los métodos de análisis tradicionales al ofrecer una vista base por base de prácticamente cualquier alteración genómica en una muestra. TruSight Whole Genome ha caracterizado el rendimiento de las siguientes clases de variantes:

- Variantes de nucleótido único (SNV)
- Inserciones y deleciones (indels)
- Variantes en el número de copias (CNV)
- Experimentos de homocigosis (ROH)
- Expansiones de repetición corta en tándem (STR)
- Variantes de ADN mitocondrial (ADNmt)

Una solución de WGS clínica validada

La validación analítica del ensayo de TruSight Whole Genome se realizó de acuerdo con las directrices del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) con más de 450 muestras en el transcurso de >150 experimentos de secuenciación. Los criterios de medición de control de calidad (CC) y la anotación de nivel de confianza incluidas en el resultado de TruSight Whole Genome identifican muestras de bajo rendimiento y permiten el filtrado de datos. Esto reduce las llamadas de falsos positivos y falsos negativos y mejora significativamente el rendimiento (tabla 1, figura 2).



Figura 1: Flujo de trabajo de TruSight Whole Genome: TruSight Whole Genome cuenta con un flujo de trabajo completo de ADN a VCF que incluye la preparación de bibliotecas, la secuenciación en NovaSeq 6000Dx Instrument y el análisis con la aplicación TruSight Whole Genome Analysis.

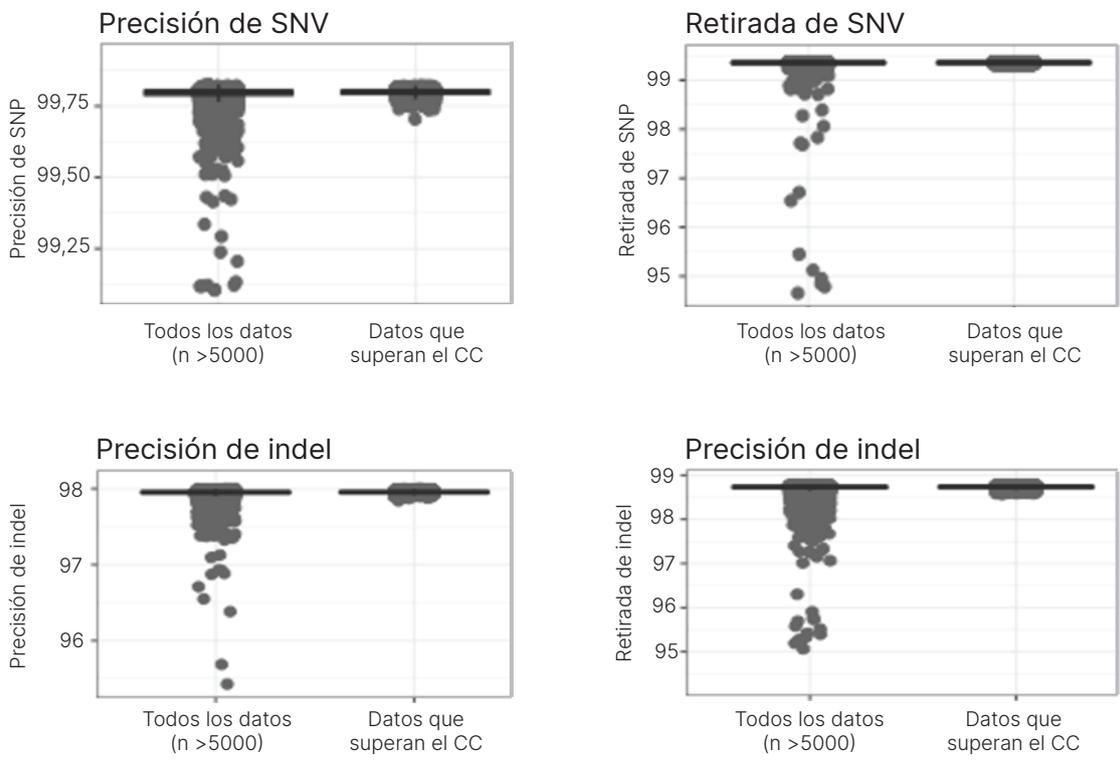


Figura 2: Los criterios de medición de CC analíticos integrados garantizan el rendimiento: el CC basado en las especificaciones de rendimiento del experimento y la muestra, los criterios de medición, incluida la cobertura, la uniformidad y la calidad de la base, permite obtener un rendimiento analítico óptimo en muestras de poca calidad sin necesidad de controles de lotes externos.

Tabla 1: El filtrado de variantes de confianza alta e intermedia mejora el rendimiento

	Sin filtrar	Confianza alta	Confianza intermedia	Confianza baja
SNV	99,79 %	99,99 %	99,85 %	94,36 %
Inserciones ≤5 pb	99,87 %	99,99 %	99,93 %	99,05 %
Deleciones ≤5 pb	99,84 %	99,97 %	99,91 %	99,12 %
Inserciones ≤15 pb	99,75 %	—	99,96 %	99,43 %
Deleciones ≤15 pb	99,70 %	—	99,93 %	99,34 %

Flujo de trabajo flexible y redimensionable

El TruSight Whole Genome ofrece un flujo de trabajo flexible y fiable (tabla 2), lo que permite preparar hasta 24 librerías en tan solo 2,5 horas.

Tabla 2: TruSight Whole Genome de un vistazo

Función	Descripción
Sistema de secuenciación	NovaSeq 6000Dx Instrument
Tipos de muestras	ADNg extraído de sangre completa
Cantidad necesaria de entrada de ADN	280 ng
Productividad de muestras ^a	6 muestras por celda de flujo S2 Dx y 16 muestras por celda de flujo S4 Dx
Tipos de variantes detectadas	SNV, indels, CNV, ROH, expansiones STR, variantes de ADNmt
Duración total del ensayo	<3 días
Tiempo de preparación de librerías	~2,5-4 h
Duración del experimento de secuenciación	~44 h
Ciclos de secuenciación	2 × 150 pb
<p>a. Las celdas de flujo dobles se pueden ejecutar simultáneamente para duplicar la productividad.</p>	

Secuenciación de Illumina demostrada

Las librerías preparadas se ejecutan en NovaSeq™ 6000Dx Instrument, utilizando células de flujo y reactivos S2 Dx o S4 Dx. NovaSeq 6000Dx Instrument es un instrumento de diagnóstico *in vitro* (DIV) con la marca CE que permite a los laboratorios clínicos desarrollar y realizar ensayos de DIV basados en NGS.

Análisis de datos automatizados

El análisis se realiza automáticamente en la aplicación de TruSight Whole Genome. Mediante el análisis secundario de DRAGEN™, la aplicación proporciona llamadas y anotaciones de variantes de alta precisión. El resultado es un archivo de VCF del genoma (gVCF), adecuado para cualquier plataforma de interpretación. Con la tecnología de compresión Original Read Archive (ORA) incluida, el almacenamiento de archivos WGS FASTQ.ORA requiere 5 veces menos espacio en comparación con el formato FASTQ.GZ tradicional.

Rendimiento excepcional

Llamada de variantes altamente precisa y repetible

Los estudios de validación analítica muestran que TruSight Whole Genome ofrece un rendimiento de llamada de variantes preciso y repetible para todos los tipos de variantes y subclasificaciones cubiertas por el ensayo (tabla 3). El análisis de componentes de la varianza realizado como parte del estudio de precisión dentro del laboratorio atribuyó de media solo una varianza mínima al lote de reactivos (<1,8 %), al instrumento de secuenciación (1,2 %) y al lote del kit de secuenciación (9,7 %).

El estudio de exactitud mostró una baja incidencia de fallos (1,4 %) cuando se analizó con 496 muestras, 40 preparaciones, 59 experimentos, 6 lotes de preparación de librerías, 4 lotes de consumibles de secuenciación, 7 sistemas de secuenciación y 8 operadores.

Tabla 3: Rendimiento de llamada de variantes de TruSight Whole Genome

Tipo de variante	Subclasificación	Precisión analítica			Precisión dentro del laboratorio	
		PPA	TPPV	NPA	APA	ANA
SNV	Confianza alta	99,4	99,9	99,9	99,9	>99,9
	Confianza intermedia	94,1	97,7	97,7	98,8	98,8
Indels 1-5 pb	Confianza alta	98,6/98,3	99,6/99,5	N/P	99,9/99,6	N/P
	Confianza intermedia	96,0/98,4	96,5/98,5	N/P	98,8/98,8	N/P
Indels 6-15 pb	Confianza intermedia	97,8/97,7	97,9/97,9	N/P	99,2/98,1	N/P
Indels 16-31 pb	Confianza intermedia	98,1/96,0	94,9/91,5	N/P	96,8/94,6	N/P
CNV	Ganancias >10 kpb	86,6	88,7	>99,9	95,2	>99,9
	Pérdidas >10 kpb	93,3	91,0	>99,9	95,6	>99,9
ROH	>500 kpb	>99,9	85,5	N/P	98,3	N/P
SNV de ADNmt		>99,99	99,91	99,24	97,2 ^a	99,9 ^{a,b}
Exp. STR	<i>AR</i>	>99,99	>99,99	>99,99	N/P	>99,99 ^b
	<i>ATN1</i>	>99,99	>99,99	>99,99	N/P	>99,99 ^b
	<i>ATXN1</i>		>99,99	>99,99	N/P	>99,99 ^b
	<i>C9ORF72</i>	>99,99	>99,99	>99,99	N/P	>99,99 ^b
	<i>DMPK</i>	>99,99	>99,99	>99,99	N/P	>99,99 ^b
	<i>FMR1</i>	>99,99	>99,99	>99,99	>99,99 ^b	>99,99 ^b
	<i>HTT</i>	>99,99	99,49	83,33	>99,99 ^b	99,8 ^b
<i>SMN1</i>	c. 840C negativa	>99,99	>99,99	>99,99	>99,99 ^b	>99,99 ^b

a. Resultados basados en la mezcla artificial dirigida a 1 × LoD (4,75 % VAF) para 32-40 centros.

b. Los resultados se notifican como PPC y PNC en lugar de APA y ANA cuando la comparación se realiza con la verdad fundamental, en lugar de un experimento de caracterización.

PPA, concordancia porcentual positiva; PPC, llamadas porcentuales positivas; TPPV, valor predictivo técnico positivo; NPA, concordancia porcentual negativa; PNC, llamadas porcentuales negativas; APA, concordancia positiva promedio; ANA, llamada negativa promedio; exp, expansiones; VAF, frecuencia de variantes de alelos Para obtener más información sobre la caracterización inicial de los tipos de variantes utilizados para medir la precisión, consulte las instrucciones de uso de TruSight Whole Genome.

Resumen

TruSight Whole Genome es un flujo de trabajo de WGS clínica validado que proporciona una detección precisa y repetible de variantes de la línea germinal. Esta solución de ADN a datos facilita la adopción mediante la optimización del proceso de desarrollo de controles, procesos bioinformáticos y la realización de estudios de validación analítica costosos y laboriosos. Los archivos genome.vcf filtrados y anotados que genera el sistema son adecuados para su uso en diversas aplicaciones de pruebas clínicas de línea germinal posteriores.

Información adicional

[TruSight Whole Genome](#)

[NovaSeq 6000Dx Instrument](#)

[Análisis secundario de DRAGEN](#)

Datos para realizar pedidos

Producto	N.º de catálogo
TruSight Whole Genome Dx Library Prep with UD Indexes, 24 sample	20093209

Declaración de uso previsto

TruSight Whole Genome es un dispositivo de diagnóstico *in vitro* cualitativo diseñado para la secuenciación del genoma completo y la detección de variantes de nucleótido único, la inserción/delección, las variantes del número de copias, los experimentos de homocigosis, las expansiones de repeticiones cortas en tándem y las variaciones mitocondriales en el ADN genómico humano extraído de la sangre.

TruSight Whole Genome incluye TruSight Whole Genome Dx Library Prep with UD Indexes y el software de la aplicación TruSight Whole Genome Analysis. El dispositivo se ha concebido para utilizarse con aplicaciones de línea germinal posteriores compatibles para desarrollar ensayos de diagnóstico *in vitro*, así como por personal de laboratorio cualificado y desarrolladores de ensayos.

TruSight Whole Genome está indicado para su uso en NovaSeq 6000Dx Instrument.



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

© 2024 Illumina, Inc. Todos los derechos reservados. Todas las marcas comerciales pertenecen a Illumina, Inc. o a sus respectivos propietarios. Si desea consultar información específica sobre las marcas comerciales, consulte www.illumina.com/company/legal.html.
 M-EMEA-01012 ESP v1.0