

TruSight™ Whole Genome

Uma solução validada, escalável e compatível com IVDR para sequenciamento clínico de genoma completo

- Facilita a adoção do WGS para testes de diagnóstico clínico com um fluxo de trabalho abrangente de DNA para VCF
- Aproveita a química de preparação de bibliotecas sem PCR para viés mínimo e uniformidade de cobertura superior
- Fornece uma variante de linha genética altamente precisa e exata que exige várias aplicações clínicas posteriores
- Garante o desempenho ideal com controles analíticos, incluindo métricas de CQ de corrida e amostra, sem a necessidade de controles externos de lote



Introdução

Métodos tradicionais para testes clínicos, incluindo PCR e microarranjos cromossômicos, têm utilidade limitada em sua capacidade de detectar variantes genéticas associadas à doença. Os métodos de sequenciamento de última geração (NGS), incluindo sequenciamento do genoma completo (WGS), estão impulsionando avanços em testes genéticos clínicos e acelerando diagnósticos. No entanto, testes de gene único e painéis de NGS multigene são abordagens direcionadas, de escopo limitado e podem perder variantes acionáveis. Além disso, esses métodos podem ser deixados desatualizados à medida que novas associações de genes e doenças são feitas, forçando os laboratórios clínicos em ciclos demorados de alteração e validação de novos testes.

O WGS fornece a visão mais abrangente do genoma humano e geralmente inclui regiões não visadas por outros métodos. O WGS sem PCR permite a análise simultânea de milhares de genes com associações de doenças conhecidas ou suspeitas, e a descoberta de novas variantes causais.

Para laboratórios clínicos que fazem a transição ou incorporam um ensaio genômico compatível com o Regulamento de diagnóstico *in vitro* (IVDR) da União Europeia (UE), a Illumina oferece o TruSight Whole Genome. Esse ensaio oferece um fluxo de trabalho abrangente de formato de identificação de DNA para variante (VCF) para WGS clínico (Figura 1). Essa solução de análise úmida de laboratório para secundário simplifica a validação do ensaio com controles internos, a identificação automatizada de variantes e os estudos de validação analítica.

Visão completa da variação genômica

O WGS supera as limitações de conteúdo dos métodos de teste tradicionais, fornecendo uma visão base a base de praticamente qualquer alteração genômica em uma amostra. O TruSight Whole Genome caracterizou o desempenho das seguintes classes de variantes:

- Variantes de nucleotídeo único (SNV)
- Inserções e exclusões (indels)
- Cópia de números de variantes (CNVs)
- Corridas de homozigidade (ROH)
- Expansões de repetição curta em tandem (STR)
- Variantes do DNA mitocondrial (mtDNA)

Uma solução WGS clínica validada

A validação analítica de ensaio do TruSight Whole Genome foi realizada de acordo com as diretrizes do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) com mais de 450 amostras ao longo de > 150 corridas do sequenciamento. Métricas de controle de qualidade (CQ) e anotação de nível de confiança incluídas no resultado do TruSight Whole Genome identificam amostras de baixo desempenho e permitem a filtragem de dados. Isso reduz as identificações positivas falsas e negativas falsas, e melhora significativamente o desempenho (Tabela 1, Figura 2).



Figura 1: Fluxo de trabalho do TruSight Whole Genome – O TruSight Whole Genome apresenta um fluxo de trabalho abrangente de DNA para VCF que inclui preparação de biblioteca, sequenciamento no Instrumento NovaSeq 6000Dx e análise com o TruSight Whole Genome Analysis App.

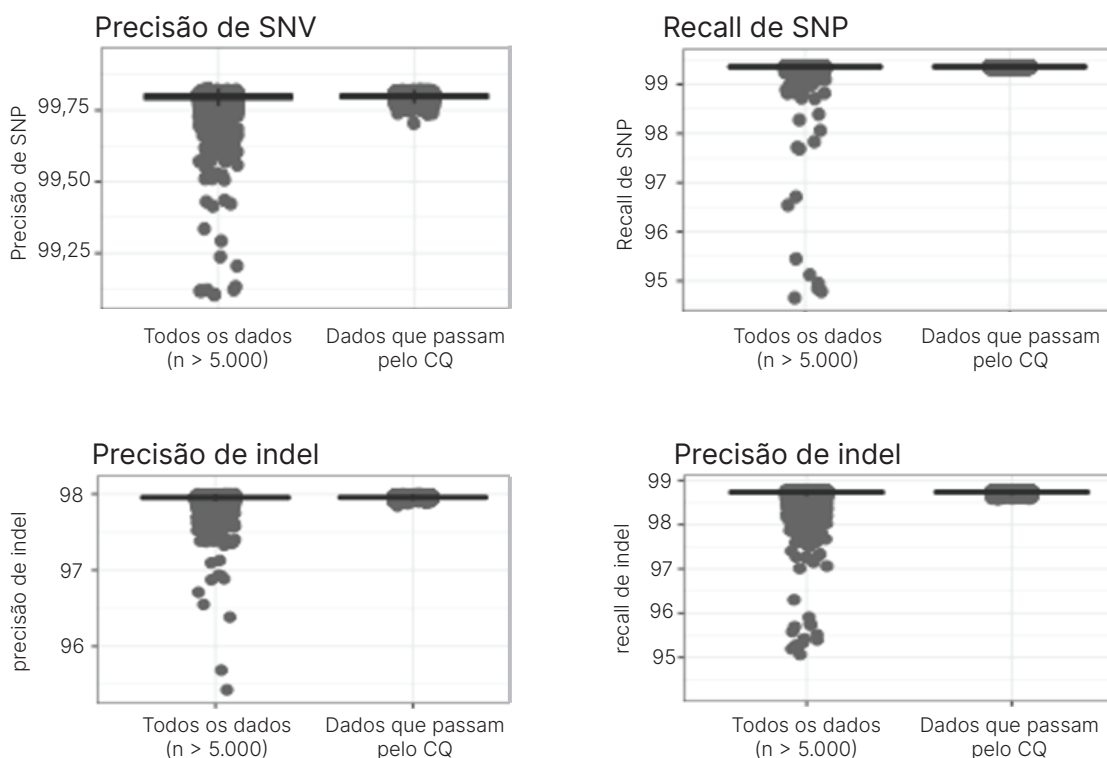


Figura 2: As métricas de CQ analíticas integradas garantem o desempenho – o CQ com base nas especificações de desempenho da corrida e da amostra, métricas, incluindo cobertura, uniformidade e qualidade da base, falha nas amostras de baixo desempenho para garantir o desempenho analítico ideal sem a necessidade de controles externos de lote.

Tabela 1: Filtrar variantes com níveis de confiança altos e intermediários melhora o desempenho.

| | Não filtrado | Confiança alta | Confiança intermediária | Confiança baixa |
|-------------------|--------------|----------------|-------------------------|-----------------|
| SNVs | 99,79% | 99,99% | 99,85% | 94,36% |
| Inserções ≤ 5 bp | 99,87% | 99,99% | 99,93% | 99,05% |
| Exclusões ≤ 5 bp | 99,84% | 99,97% | 99,91% | 99,12% |
| Inserções ≤ 15 bp | 99,75% | — | 99,96% | 99,43% |
| Exclusões ≤ 15 bp | 99,70% | — | 99,93% | 99,34% |

Fluxo de trabalho flexível e escalável

O TruSight Whole Genome oferece um fluxo de trabalho flexível e confiável (Tabela 2), permitindo que até 24 bibliotecas sejam preparadas em apenas 2,5 horas.

Tabela 2: Resumo do TruSight Whole Genome

| Recurso | Descrição |
|---|--|
| Sistema de sequenciamento | Instrumento NovaSeq 6000Dx |
| Tipos de amostra | gDNA extraído do sangue total |
| Requisito de dados de DNA | 280 ng |
| Rendimento da amostra ^a | 6 amostras por lâmina de fluxo S2 Dx e 16 amostras por lâmina de fluxo S4 Dx |
| Tipos de variantes detectadas | SNVs, indels, CNVs, ROH, expansões de STR, variantes do mtDNA |
| Tempo total do ensaio | < 3 dias |
| Tempo total de preparação de biblioteca | ~2,5 a 4 horas |
| Tempo de corrida do sequenciamento | ~44 horas |
| Ciclos de sequenciamento | 2 × 150 bp |

a. Corridas das lâminas de fluxo duplo podem ser feitas simultaneamente para dobrar a produtividade.

Sequenciamento comprovado da Illumina

As corridas das bibliotecas preparadas são executadas no Instrumento NovaSeq™ 6000Dx, usando lâminas de fluxo e reagentes S2 Dx ou S4 Dx. O Instrumento NovaSeq 6000Dx é um instrumento de diagnóstico *in vitro* (IVD) com certificação CE que permite que laboratórios clínicos desenvolvam e realizem ensaios IVD baseados em NGS.

Análise automatizada de dados

A análise é realizada automaticamente no TruSight Whole Genome Analysis App. Usando a análise secundária do DRAGEN™, o aplicativo fornece identificação e anotação de variantes altamente precisas. O resultado é um arquivo VCF do genoma (gVCF), adequado para qualquer plataforma de interpretação. Com a tecnologia de compactação Original Read Archive (ORA), o armazenamento de arquivos FASTQ.ORA do WGS requer 5× menos espaço em comparação com o formato FASTQ.GZ tradicional.

Desempenho excepcional

Identificação de variante altamente precisa e repetível

Estudos de validação analítica mostram que o TruSight Whole Genome fornece desempenho preciso e repetível de identificação de variantes para todos os tipos de variantes e subclassificações cobertas pelo ensaio (Tabela 3). A análise do componente de variância conduzida como parte do estudo de precisão intralaboratorial atribuiu, em média, apenas variância mínima ao lote de reagentes (< 1,8%), instrumento de sequenciamento (1,2%) e lote do kit de sequenciamento (9,7%).

O estudo de exatidão mostrou uma baixa incidência de falha (1,4%) quando testado com 496 amostras, 40 preparações, 59 corridas, 6 lotes de preparação de bibliotecas, 4 lotes de material de consumo de sequenciamento, 7 sistemas de sequenciamento e 8 operadores.

Tabela 3: Desempenho de identificação de variante do TruSight Whole Genome

| Tipo de variante | Subclassificação | Precisão analítica | | | Precisão intralaboratorial | |
|------------------|-------------------------|--------------------|-----------|---------|----------------------------|----------------------|
| | | PPA | TPPV | NPA | APA | ANA |
| SNVs | Confiança alta | 99,4 | 99,9 | 99,9 | 99,9 | > 99,9 |
| | Confiança intermediária | 94,1 | 97,7 | 97,7 | 98,8 | 98,8 |
| Indels 1-5 bp | Confiança alta | 98,6/98,3 | 99,6/99,5 | N/A | 99,9/99,6 | N/A |
| | Confiança intermediária | 96,0/98,4 | 96,5/98,5 | N/A | 98,8/98,8 | N/A |
| Indels 6-15 bp | Confiança intermediária | 97,8/97,7 | 97,9/97,9 | N/A | 99,2/98,1 | N/A |
| Indels 16-31 bp | Confiança intermediária | 98,1/96,0 | 94,9/91,5 | N/A | 96,8/94,6 | N/A |
| CNVs | Ganhos > 10 kbp | 86,6 | 88,7 | > 99,9 | 95,2 | > 99,9 |
| | Perdas > 10 kbp | 93,3 | 91,0 | > 99,9 | 95,6 | > 99,9 |
| ROH | > 500 kbp | > 99,9 | 85,5 | N/A | 98,3 | N/A |
| SNVs do mtDNA | | > 99,99 | 99,91 | 99,24 | 97,2 ^a | 99,9 ^{a,b} |
| Exp. de STR | <i>AR</i> | > 99,99 | > 99,99 | > 99,99 | N/A | > 99,99 ^b |
| | <i>ATN1</i> | > 99,99 | > 99,99 | > 99,99 | N/A | > 99,99 ^b |
| | <i>ATXN1</i> | | > 99,99 | > 99,99 | N/A | > 99,99 ^b |
| | <i>C9ORF72</i> | > 99,99 | > 99,99 | > 99,99 | N/A | > 99,99 ^b |
| | <i>DMPK</i> | > 99,99 | > 99,99 | > 99,99 | N/A | > 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 negativo | > 99,99 | > 99,99 | > 99,99 | > 99,99 ^b | > 99,99 ^b |

a. Resultados baseados em misturas concebidas direcionadas a 1 × LoD (4,75% VAF) para 32-40 locais.

b. Os resultados são relatados como PPC e PNC, em vez de APA e ANA, quando a comparação é feita com a verdade básica, em oposição a uma corrida de caracterização.

PPA, concordância percentual positiva; PPC, porcentagem de chamadas positivas; TPPV, valor predicativo positivo técnico; NPA, concordância percentual negativa; PNC, porcentagem de chamadas negativas; APA, concordância média positiva; ANA, concordância média negativa; exp, expansões; VAF, frequência de alelos variantes. Para obter mais informações sobre a caracterização inicial dos tipos de variantes usados para medir a precisão, consulte o folheto informativo do TruSight Whole Genome.

Resumo

O TruSight Whole Genome é um fluxo de trabalho de WGS clínico validado que fornece detecção precisa e repetível de variantes da linha genética. Essa solução de DNA para dados facilita a adoção, simplificando o processo de desenvolvimento de controles, pipelines de bioinformática e realizando estudos de validação analítica caros e demorados. Os arquivos genoma.vcf filtrados e anotados gerados pelo sistema são adequados para uso em várias aplicações de testes clínico de linha genética posteriores.

Saiba mais

[TruSight Whole Genome](#)

[Instrumento NovaSeq 6000Dx](#)

[Análise secundária do DRAGEN](#)

Informações para pedido

| Produto | N.º do catálogo |
|--|-----------------|
| TruSight Whole Genome Dx Library Prep with UD Indexes, 24 amostras | 20093209 |

Declarações de uso pretendido

O TruSight Whole Genome é um dispositivo de diagnóstico qualitativo *in vitro* destinado ao sequenciamento do genoma completo e à detecção de variantes de nucleotídeo único, inserção/exclusões, variantes de número de cópias, corridas de homozigiosidade, expansões curtas de repetição em tandem e variações mitocondriais no DNA genômico humano extraído do sangue.

O TruSight Whole Genome inclui o TruSight Whole Genome Dx Library Prep with UD Indexes e o TruSight Whole Genome Analysis Application Software. O dispositivo deve ser usado com aplicativos compatíveis de linha genética posteriores para desenvolver ensaios de diagnóstico *in vitro* e por pessoal de laboratório qualificado e desenvolvedores de ensaios.

O TruSight Whole Genome deve ser usado no Instrumento NovaSeq 6000Dx.



+1 (800) 809-4566, ligação gratuita (EUA) | tel. +1 (858) 202-4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2024 Illumina, Inc. Todos os direitos reservados. Todas as marcas comerciais pertencem à Illumina, Inc. ou aos respectivos proprietários. Para obter informações específicas sobre marcas comerciais, consulte www.illumina.com/company/legal.html.
M-EMEA-01012 PTB v1.0