

TruSight^{MC} Cystic Fibrosis

Une solution de séquençage nouvelle génération pour le diagnostic *in vitro* approuvée par la FDA

- Un flux de travail unique permet aux utilisateurs de procéder à deux tests pour détecter la fibrose kystique
- Un panel de variants ancestraux divers combiné à un séquençage complet de gènes *CFTR* fournit une couverture exhaustive
- Une préparation efficace de la librairie fournit un débit très flexible de 24 à 96 échantillons par série d'analyse
- Des résultats très précis et faciles à interpréter présentés dans un rapport clair et concis

illumina[®]

Introduction

La fibrose kystique (FK) touche environ 70 000 enfants et adultes dans le monde entier.¹ La maladie apparaît lorsqu'un individu hérite de deux variants causant la maladie dans le gène régulateur de la conductance transmembranaire de la fibrose kystique (*CFTR*). Des millions de personnes sont porteuses d'un gène unique mutant et ne présentent aucun symptôme. Plusieurs de ces personnes, qu'on appelle porteurs, ne sont pas au courant de cette mutation ni du fait qu'elles peuvent transmettre la mutation à leurs enfants. Aux États-Unis seulement, la fréquence des porteurs est estimée à 3 % de la population.²

La FK touche une population variée, l'incidence connue la plus élevée étant observée chez les populations européennes.³ Un diagnostic et un traitement précoces de la FK peuvent permettre d'améliorer la survie et la qualité de vie.⁴ Cependant, les méthodes d'analyse actuelles de la FK sont axées sur les variants *CFTR* que l'on retrouve le plus souvent chez les individus d'ascendance européenne. On pourrait ainsi passer à côté des variants étiologiques de la FK dans d'autres données démographiques qui pourraient être importantes sur le plan clinique. Par conséquent, les familles peuvent subir de longues périodes de tests génétiques supplémentaires et l'administration du traitement aux patients peut être retardée.

Pour résoudre ce problème, Illumina a mis sur le marché le test de 139 variants de la fibrose kystique MiSeq^{MC}Dx et le test de séquençage clinique de la fibrose kystique MiSeqDx. Ces tests ont été les premiers tests de diagnostic *in vitro* (DIV) basés sur le séquençage nouvelle génération (SNG) à avoir été approuvés par la Food and Drug Administration pour la fibrose kystique. Ces tests préexistants ont été consolidés dans une solution de SNG unique pour la détection de la fibrose kystique : Fibrose kystique TruSight (Figure 1).

Fibrose kystique TruSight consolide les tests de fibrose kystique existants

Fibrose kystique TruSight combine le test de 139 variants de la fibrose kystique MiSeqDx et le test de séquençage clinique de la fibrose kystique MiSeqDx dans une seule trousse pour améliorer la polyvalence et le débit d'échantillons avec des réactifs de séquençage actualisés, tout en maintenant le même flux de travail, les mêmes caractéristiques du produit et la même performance que les tests originaux. Dans le cadre de l'intégration du système Fibrose kystique TruSight, les noms des tests ont changé. Ils se nomment désormais le test de 139 variants de la fibrose kystique TruSight et le test de séquençage clinique de la fibrose kystique TruSight.



Figure 1 : Fibrose kystique TruSight — Fibrose kystique TruSight combine les tests préexistants dans une seule trousse pour améliorer la polyvalence et le débit d'échantillons.

Flux de travail intégré

Fibrose kystique TruSight intègre les deux tests dans un flux de travail unique pour la détection de la FK (Figure 2). Les clients choisissent le test qu'ils veulent effectuer au début en sélectionnant le module d'analyse approprié dans Local Run Manager (LRM). Les utilisateurs préparent ensuite les bibliothèques d'échantillons, les chargent dans l'instrument de séquençage MiSeqDx et analysent les données avec le logiciel approprié.

Pour déterminer quel test serait le plus approprié aux objectifs de l'analyse, les utilisateurs doivent tenir compte de ce qui suit :

- **Test de 139 variants de la fibrose kystique TruSight :** détecte avec précision 139 variants *CFTR* cliniquement pertinents⁵ (Tableau 1).
- **Test de séquençage clinique de la fibrose kystique TruSight :** séquence toutes les régions de codage de protéine et les limites intron/exon (Figure 3), offrant une vue complète du gène *CFTR*.

Pour plus de renseignements, consultez les [Déclarations relatives à l'utilisation prévue](#) ou lisez la [Notice d'accompagnement](#).

Configuration optimisée de la trousse

Fibrose kystique TruSight maintient le même flux de travail, les mêmes caractéristiques du produit et la même qualité de données et de performance que le test de 139 variants de la fibrose kystique MiSeqDx et le test de séquençage clinique de la fibrose kystique MiSeqDx. Fibrose kystique TruSight comporte une configuration modulaire avec des réactifs de préparation des bibliothèques et des réactifs de séquençage vendus séparément pour offrir plus de souplesse dans la commande de composants. De plus, Fibrose kystique TruSight utilise la chimie de séquençage par synthèse (SBS) MiSeqDx v3 améliorée, ce qui se traduit par une densité des amplifiats et des longueurs de lectures plus élevées, ainsi que d'offrir de meilleurs débits d'échantillons.

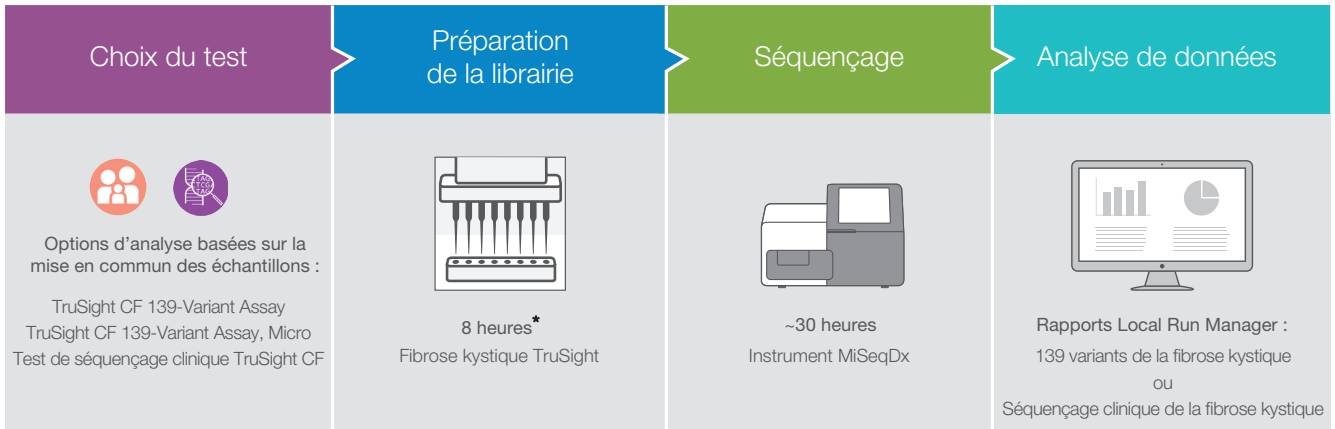


Figure 2 : Flux de travail de la fibrose kystique TruSight — Fibrose kystique TruSight fournit un flux de travail intégré et simplifié qui comprend la préparation de la librairie, le séquençage, l'analyse de données et la production de rapports pour le test de 139 variants de la fibrose kystique et le test de séquençage clinique.

* Le temps de préparation de la librairie dépend du débit d'échantillons et peut varier.

Fibrose kystique TruSight permet d'utiliser une même trousse de préparation des librairies quatre fois pour traiter 24 échantillons par analyse ou une seule fois pour traiter 96 échantillons en une seule analyse. Deux configurations de trousse de séquençage fournissent une flexibilité supplémentaire : la trousse standard MiSeqDx v3 (24 à 96 échantillons par Flow Cell) et la trousse à un meilleur prix MiSeqDx v3 Micro (24 à 36 échantillons par Flow Cell). Tous les réactifs sont emballés dans un format prêt à utiliser, ce qui réduit la durée de manipulation et améliore l'uniformité de tous les tests.

Tableau 1 : Le test de 139 variants de la fibrose kystique TruSight offre un panel de variants *CFTR* pertinents sur le plan clinique.

Mutations dans la liste ACMG-23 pour le criblage de la FK		
R347P	1717-1G>A	3849+10kbC>T
G85E	G542X	W1282X
R117H	G551D	711+1G>T
621+1G>T	R553X	R560T
R334W	2184delA	1898+1G>A
A455E	2789+5G>A	N1303K
I507del	3120+1G>A	R1162X
F508del	3659delC	

Seul un sous-ensemble de variants compris dans le test est répertorié. Pour consulter la liste complète des variants dans le test de 139 variants de la fibrose kystique TruSight, consultez le site www.illumina.com/TruSightCysticFibrosis.

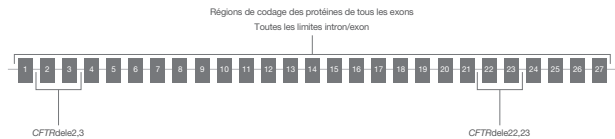


Figure 3 : Régions du gène *CFTR* séquencées avec le test de séquençage clinique de la fibrose kystique TruSight — Les régions du gène *CFTR* séquencées par le test incluent les régions de codage de protéine dans les exons, toutes les limites intron et exon, ~100 nt de séquence adjacente au 5' UTR et 3' UTR, deux mutations introniques profondes (1 811 + 1,6 kbA > G, 3 489 + 10 kbC > T), deux grandes délétions (CFTRdele2,3, CFTRdele22,23) et les régions PolyTG/PolyT.

La préparation efficace de la librairie améliore le débit

La préparation de la librairie commence par 250 ng d'ADN génomique (ADNg) isolé à partir d'un échantillon de sang. L'ADN est mélangé à un ensemble de sondes oligonucléotidiques. Chaque sonde comprend une séquence, conçue pour saisir le variant désigné, et une séquence d'adaptateur, utilisée dans une réaction d'amplification consécutive. Les sondes s'hybrident avec l'ADN, une en amont et l'autre en aval des variants *CFTR* spécifiques (Figure 4). Une réaction d'extension-ligation de propriété exclusive s'étend sur la région d'intérêt, suivie d'une ligation pour lier les deux sondes. La réaction crée un modèle de brin et donne une excellente spécificité au test (Tableau 2).

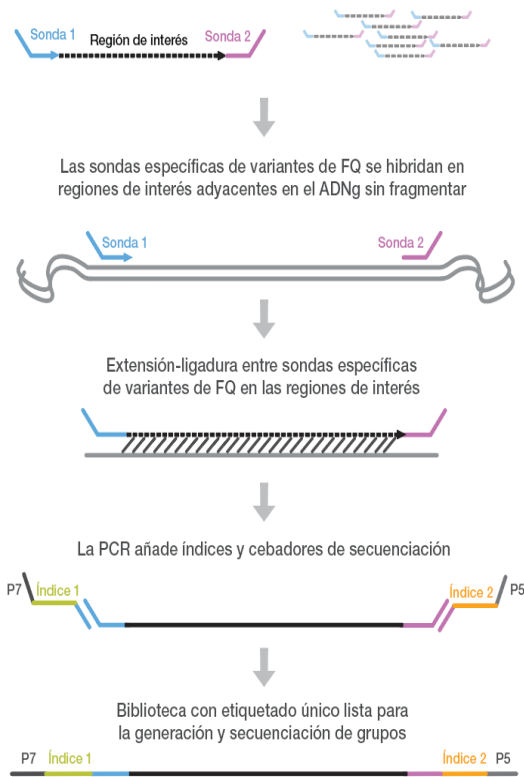


Figure 4 : Chimie de la fibrose kystique TruSight — Fibrose kystique TruSight permet le multiplexage de 96 échantillons maximum au cours de la même analyse. Le test de 139 variants de la fibrose kystique TruSight et le test de séquençage clinique de la fibrose kystique TruSight utilisent la même chimie pour générer des librairies de séquençage de grande qualité.

Pour augmenter le nombre d'échantillons analysés dans une même analyse de séquençage, des librairies sont « marquées » de façon individuelle avec un identifiant ou un index unique. Ces index propres à l'échantillon sont ajoutés à chaque modèle d'extension-ligation dans une étape d'amplification par PCR. Le produit de réaction final comprend les variants *CFTR* avec les adaptateurs et les index nécessaires au séquençage sur l'instrument MiSeqDx. Une stratégie automatisée de séquençage à quatre lectures permet de détecter chaque échantillon marqué pour effectuer une analyse individuelle en aval. Grâce à cette approche, l'identification des échantillons est très précise, ce qui permet de maintenir l'intégrité du test. Avec Fibrose kystique TruSight, 24 à 96 échantillons peuvent être regroupés et analysés au moyen d'une trousse standard MiSeqDx v3 pour le test de 139 variants de la fibrose kystique TruSight et le test de séquençage clinique de la fibrose kystique TruSight dans une seule analyse de séquençage. Il est également possible d'utiliser la trousse MiSeqDx v3 Micro pour exécuter un lot plus petit de 24 à 36 échantillons pour l'un ou l'autre des tests, ainsi que le module de test Micro respectif dans Local Run Manager.

Des résultats très précis, faciles à interpréter

Les résultats du système Fibrose kystique TruSight sont présentés dans un format facile à lire qu'un généticien moléculaire détenteur d'un certificat de spécialiste ou équivalent peut facilement interpréter. Les deux rapports découlant des tests comprennent le nom du test, l'identifiant de l'échantillon, l'identifiant du variant, les génotypes et le taux de définition pour chaque échantillon (≥ 99 % des positions doivent être définies pour qu'un échantillon soit considéré comme valide). Le test de séquençage clinique de la fibrose kystique TruSight fournit également le type de variant, la fréquence de l'allèle, les coordonnées génomiques et la profondeur de séquençage pour chaque variant identifié. En plus des rapports générés par le logiciel Local Run Manager, les utilisateurs ont accès aux fichiers de données brutes pour un stockage pratique.

Tableau 2 : Performance du système Fibrose kystique TruSight

Test de 139 variants de la fibrose kystique TruSight			
Caractéristique	CP ^a	CN ^b	CG ^c
Précision	100 %	> 99,99 %	> 99,99 %
Reproductibilité	99,77 %	99,88 %	99,88 %
Test de séquençage clinique de la fibrose kystique TruSight			
Caractéristique	CP ^a	CN ^b	CG ^c
Précision	99,66 %	> 99,99 %	> 99,99 %
Reproductibilité	99,22 %	99,70 %	99,70 %

- a. Une concordance positive (CP) est le nombre d'échantillons ayant des appels de variant concordants divisé par le nombre total d'échantillons ayant ce variant comme indiqué par les méthodes de référence.
- b. Une concordance négative (CN) est calculée à travers toutes les positions de type sauvage (TS) en divisant le nombre de positions de TS concordantes par le nombre total de positions TS comme indiqué par les méthodes de référence.
- c. La concordance globale (CG) est calculée à travers toutes les positions signalées en divisant le nombre de TS concordants et des positions de variants par le nombre total de positions signalées comme il est déterminé par les méthodes de référence.

Récapitulatif

Fibrose kystique TruSight offre une nouvelle configuration de la trousse qui combine le test de 139 variants de la fibrose kystique TruSight et le test de séquençage clinique de la fibrose kystique TruSight en une seule solution. Fibrose kystique TruSight maintient le même flux de travail, les mêmes caractéristiques du produit et la même qualité de données et de performance que le test de 139 variants de la fibrose kystique MiSeqDx et le test de séquençage clinique de la fibrose kystique MiSeqDx. Le test de 139 variants de la fibrose kystique TruSight combine un panel élargi de 139 variants avec la technologie de pointe SNG. Le test fournit des résultats précis pour une population ancestrale diversifiée et améliore la détection des couples présentant un risque d'avoir un enfant atteint. Pour des renseignements plus approfondis sur la FK, le test de séquençage clinique de la fibrose kystique TruSight permet le séquençage du gène *CFTR* pour obtenir une vue d'ensemble du profil génétique non disponible dans les panels standards de génotypage moléculaire. Les données supplémentaires permettent d'éliminer les biais démographiques et de détecter avec précision deux grandes délétions, deux mutations introniques profondes et des indels dans les régions homopolymériques. Fibrose kystique TruSight offre une solution intégrée d'évaluation de la FK qui donne la possibilité aux cliniciens d'effectuer un criblage de variants connus avant d'interroger le gène *CFTR* pour de nouvelles mutations.

En savoir plus

Pour en savoir plus sur Fibrose kystique TruSight, consultez le site illumina.com/TruSightCysticFibrosis

Renseignements pour commande

Produit	N° de référence
TruSight Cystic Fibrosis Library Prep	20036925
Instrument MiSeqDx	DX-410-1001
MiSeqDx Reagent Kit v3	20037124
MiSeqDx Reagent Kit v3, Micro	20063860

Plateforme SNG flexible pour les tests de DIV

De plus, une gamme croissante de tests pour DIV approuvés et homologués par la FDA peut être utilisée avec l'instrument MiSeqDx, en plus de la trousse Fibrose kystique TruSight :

- Trousse d'amplicons personnalisés **TruSeq^{MC} Dx** — Une trousse validée et réglementée par la FDA, portant le marquage – CE-IVD et permettant aux laboratoires cliniques de concevoir des tests personnalisés.
- **Panel RAS étendu Praxis^{MC}** — Le premier SPG destiné au diagnostic *in vitro* approuvé par la FDA pour l'évaluation des mutations RAS dans le cancer colorectal pour déterminer l'admissibilité d'un patient à un traitement par Vectibix.

Références

1. Fondation de la fibrose kystique. www.cff.org/What-is-CF/About-Cystic-Fibrosis/. Consulté le 1er mars 2022.
2. Strom CM, Crossley B, Buller-Buerkle A, et al. **Cystic fibrosis testing 8 years on: lessons learned from carrier screening and sequencing analysis.** *Genet Med.* 2011;13(2):166–172. doi:10.1097/GIM.0b013e3181fa24c4
3. Mirtajani SB, Farnia P, Hassanzad M, et al. **Geographical distribution of cystic fibrosis; the past 70 years of data analysis.** *Biomed and Biotech Res J.* 2017;1(2):105–112. doi:10.4103/bbrj.bbrj_81_17
4. Rock MJ, Levy H, Zaleski C, Farrell PM. **Factors accounting for a missed diagnosis after newborn screening.** *Pediatr Pulmonol.* 2011;46(12):1166–1174. doi:10.1002/ppul.21509
5. Clinical and Functional Translation of *CFTR*. www.cftr2.org. Consulté en août 2013.
6. Watson MS, Cutting GR, Desnick RJ, et al. **Cystic fibrosis population carrier screening: 2004 revision of American College of Medical Genetics mutation panel.** *Genet Med.* 2004;6(5):387–391. doi:10.1097/01.gim.0000139506.11694.7c
7. American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Genetics. **ACOG Committee Opinion No. 486: Update on carrier screening for cystic fibrosis.** *Obstet Gynecol.* 2011;117(4):1028–1031. doi: 10.1097/AOG.0b013e31821922c2

Déclarations relatives à l'utilisation prévue

Utilisation prévue du test de 139 variants de la fibrose kystique TruSight

Le test de 139 variants de la fibrose kystique TruSight d'Illumina est un système de diagnostic *in vitro* qualitatif utilisé pour détecter 139 mutations pertinentes sur le plan clinique provoquant la fibrose kystique et pour identifier des variants du gène régulateur de la conductance transmembranaire de la fibrose kystique (*CFTR*) simultanément dans l'ADN génomique isolé d'échantillons de sang entier périphérique d'origine humaine. Les variants comprennent ceux recommandés par l'American College of Medical Genetics (ACMG) en 2004⁶ et par l'American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) en 2011.⁷ Ce test a pour but de dépister les porteurs de la maladie chez les adultes en âge de procréer. Il vise aussi à confirmer les tests de diagnostic des nouveau-nés et des enfants. Enfin, il sert de test initial pour aider à diagnostiquer les personnes probablement atteintes de fibrose kystique. Les résultats de ce test doivent être interprétés par un généticien moléculaire clinicien détenteur d'un certificat de spécialiste ou équivalent. Ils doivent être utilisés conjointement avec d'autres données cliniques et de laboratoire. Ce test n'est pas indiqué pour le dépistage des nouveau-nés, les tests de diagnostic fœtal, les tests préimplantatoires ou à des fins diagnostiques autonomes. Le test est destiné à être utilisé sur l'instrument MiSeqDx d'Illumina.

Utilisation prévue du test de séquençage clinique de la fibrose kystique TruSight

Le test de séquençage clinique de la fibrose kystique TruSight d'Illumina est un système de séquençage ciblé de diagnostic *in vitro* qui reséquence les régions de codage de protéines et les limites intron/exon du gène régulateur de la conductance transmembranaire de la fibrose kystique (*CFTR*) dans l'ADN génomique isolé d'échantillon de sang entier périphérique d'origine humaine prélevé dans le K2EDTA. Le test détecte les variants de nucléotides uniques et les petits indels au sein de la région séquencée, et signale également deux mutations introniques profondes et deux importantes délétions. Le test est destiné à être utilisé sur l'instrument MiSeqDx d'Illumina.

Le test est destiné à être utilisé pour faciliter le diagnostic des personnes soupçonnées d'avoir la fibrose kystique (FK). Ce test est plus approprié lorsque le patient présente une fibrose kystique atypique ou non classique ou lorsque d'autres panels de mutation n'ont pas permis d'identifier les deux mutations étiologiques. Les résultats de ce test doivent être interprétés par un généticien moléculaire clinicien diplômé ou équivalent et doivent être utilisés avec les autres renseignements cliniques et de laboratoire disponibles, y compris les symptômes cliniques, d'autres tests de diagnostic et les antécédents familiaux. Ce test n'est pas indiqué pour le dépistage des nouveau-nés, des porteurs, ou de la population, pour les tests de diagnostic fœtal, pour les tests préimplantatoires ou à des fins diagnostiques autonomes.

illumina®

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

© 2022 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 le lien www.illumina.com/company/legal.html.

M-GL-00145 FRA v2.0