

TruSight^{MC} Cystic Fibrosis

Une solution de séquençage de prochaine génération pour le diagnostic *in vitro*, approuvée par la FDA, qui combine un panel étendu de variants de la fibrose kystique pertinents d'un point de vue clinique et validés d'un point de vue fonctionnel comportant une vue complète du gène *CFTR*.

Points forts

- Deux tests consolidés en un seul flux de travail**
 Un flux de travail de préparation de la bibliothèque permet aux utilisateurs d'exécuter deux tests préexistants pour l'analyse de la FK
- Couverture complète des variants *CFTR***
 Un panel de variants ethniques divers et le séquençage complet de gènes *CFTR* fournissent une couverture des variants pertinents au plan clinique
- Un débit souple**
 Une préparation de bibliothèque efficace fournit un débit très flexible de 24 à 96 échantillons par série d'analyse
- Des résultats précis, faciles à interpréter**
 Des résultats très précis et reproductibles présentés dans un rapport clair et concis



Figure 1 : TruSight Cystic Fibrosis : TruSight Cystic Fibrosis combine les tests préexistants en une seule trousse pour améliorer sa versatilité et le débit de traitement des échantillons.

Introduction

La fibrose kystique (FK) touche environ 70 000 enfants et adultes dans le monde entier.¹ La maladie apparaît quand une personne hérite de deux variants causant la maladie en position trans du gène du récepteur 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 porteuses, ne sont pas au courant qu'elles ont cette mutation ni qu'elles peuvent transmettre le gène de la FK à leurs enfants. Aux États-Unis seulement, la fréquence des personnes porteuses du gène est estimée être 3 % de la population.²

La FK touche une population variée, l'incidence connue la plus élevée étant observée chez les personnes de descendance caucasienne.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 du *CFTR* qu'on retrouve le plus souvent chez les Caucasiens, ce qui peut faire en sorte de passer à côté des variants responsables de la FK dans d'autres groupes démographiques qui pourraient être importants d'un point de vue clinique. Par conséquent, de longues périodes de tests génétiques supplémentaires peut être nécessaires pour les familles et l'administration du traitement aux patients peut être retardée.

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

TruSight Cystic Fibrosis consolide les tests existants pour la FK

TruSight Cystic Fibrosis combine le test MiSeqDx Cystic Fibrosis 139-Variant et le test MiSeqDx Cystic Fibrosis Clinical Sequencing en une seule trousse pour améliorer sa versatilité et le débit de traitement des 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 dans la trousse TruSight Cystic Fibrosis, le nom des tests a changé pour devenir TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant Assay et TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing Assay.

Flux de travail intégré

TruSight Cystic Fibrosis intègre les deux tests en un seul flux de travail pour la détection de la FK (figure 2). Les clients choisissent le test qu'ils veulent exécuter au début en sélectionnant le module d'analyse approprié dans le 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 :

- TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant Assay** : permet de détecter avec précision 139 variants du gène *CFTR* pertinents d'un point de vue clinique⁵ (tableau 1).
- TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing Assay** : effectue le séquençage de toutes les régions de codage des protéines et des limites intron-exon (figure 3), offrant une vue complète du gène *CFTR*.

Pour plus de renseignements, consultez les [Déclarations d'utilisation prévue](#) ou lisez la notice du produit.

Configuration optimale de la trousse

TruSight Cystic Fibrosis maintient le même flux de travail, les mêmes caractéristiques du produit et la même qualité en matière de performance et de données que les tests MiSeqDx Cystic Fibrosis 139-Variant et MiSeqDx Cystic Fibrosis Clinical Sequencing. TruSight Cystic Fibrosis 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 composantes. De plus, TruSight Cystic Fibrosis utilise la trousse de réactifs MiSeqDx v3 qui comporte un produit de traitement amélioré de séquençage par synthèse (SPS), ce qui se traduit par une densité plus

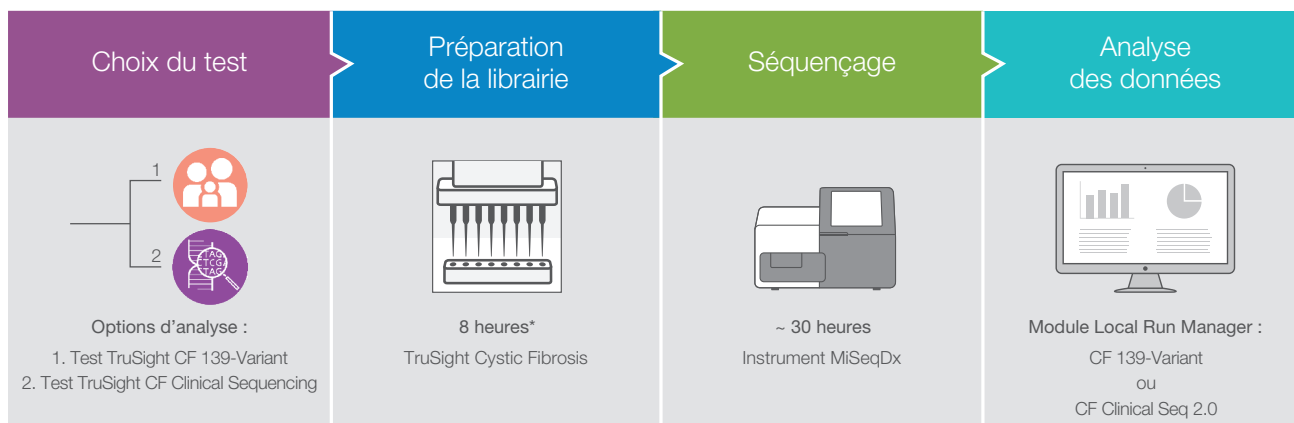


Figure 2 : Flux de travail TruSight Cystic Fibrosis : TruSight Cystic Fibrosis fournit un flux de travail intégré et simplifié qui comprend la préparation des bibliothèques, le séquençage, l'analyse de données et la production de rapports pour les tests TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant et Clinical Sequencing. * Le temps de préparation des bibliothèques dépend du débit de traitement de l'échantillon et peut varier.

élevée de génération d'amplifiats et des lectures plus longues, et permet d'offrir de meilleurs débits de traitement des échantillons. La trousse TruSight Cystic Fibrosis offre de la souplesse, la même trousse pouvant être utilisée quatre fois pour traiter 24 échantillons par analyse ou une seule fois pour traiter 96 échantillons en une seule analyse. Tous les réactifs sont emballés dans un format pratique prêt à utiliser, ce qui minimise le temps de manipulation et améliore l'uniformité de tous les tests.

Tableau 1 : TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant Assay offre un panel complet de variants du gène CFTR pertinents d'un point de vue clinique.

Mutations dans la liste ACMG-23 recommandées 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 présents dans le test TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant, rendez-vous au www.illumina.com/TruSightCysticFibrosis.

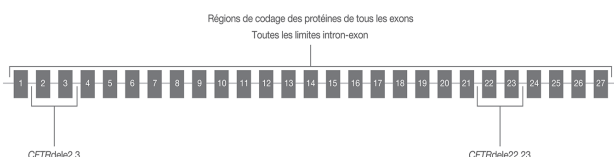


Figure 3 : régions du CFTR séquencées à l'aide du test TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing L : Les régions du CFTR séquencées par le test comprennent les régions de codage des protéines de tous les exons, les limites intron-exon, ~ 100 nt de séquences adjacentes aux UTR 5' et 3', deux mutations introniques profondes (1811+1.6kbA>G, 3489+10kbC>T), deux grosses délétions (CFTRdele2,3, CFTRdele22,23) et la région PolyTG/PolyT.

Préparation de bibliothèques efficaces qui améliorent le débit

La préparation de bibliothèques 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 choisi et une séquence d'adaptateur utilisée dans une réaction d'amplification consécutive. La sonde effectue une hybridation de l'ADN, une en amont et une en aval des variants spécifiques du CFTR (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 brin complémentaire, ce qui donne au test une excellente spécificité (tableau 2).

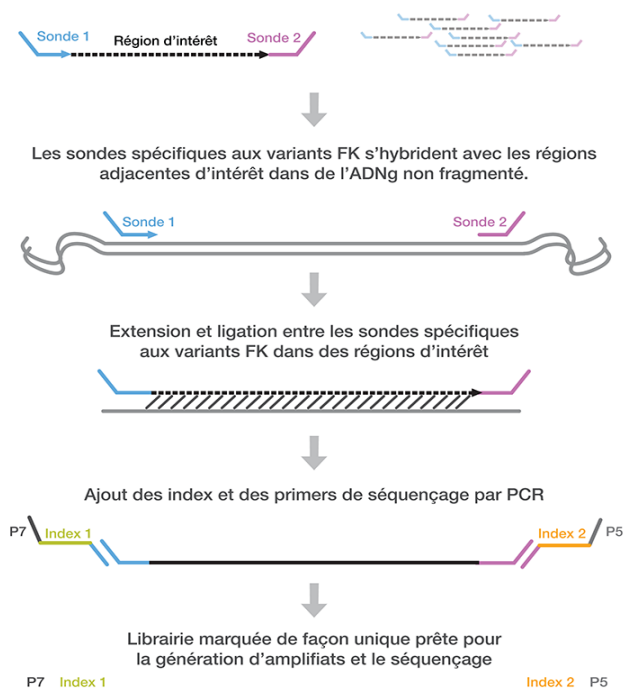


Figure 4 : produit de traitement de TruSight Cystic Fibrosis : Le test TruSight Cystic Fibrosis permet le multiplexage de jusqu'à 96 échantillons dans une seule analyse. Les tests TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant et TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing utilisent le même produit de traitement pour produire des bibliothèques de séquençage de grande qualité.

Pour augmenter le nombre d'échantillons analysés dans une même analyse de séquençage, les bibliothèques 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 la réaction final contient les variants du *CFTR* et les index et les adaptateurs de séquençage nécessaires dans 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 TruSight Cystic Fibrosis, 24 à 96 échantillons peuvent être regroupés et analysés dans une Flow Cell MiSeqDx v3 pour le test TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant ou Clinical Sequencing dans une seule analyse de séquençage.

Des résultats très précis, faciles à interpréter

Les résultats provenant de TruSight Cystic Fibrosis sont présentés d'une manière facile à lire qu'un généticien moléculaire diplômé ou son 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 d'appel pour chaque échantillon (≥ 99 % des positions doivent être appelées pour qu'un échantillon soit considéré comme valide). Le test TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing fournit aussi 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 produits par le logiciel Local Run Manager, les utilisateurs ont accès aux fichiers de données brutes pour un stockage pratique.

Tableau 2 : Performance de TruSight Cystic Fibrosis

Test TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant			
Caractéristique	PA ^a	NA ^b	OA ^c
Précision	100 %	> 99,99 %	> 99,99 %
Reproductibilité	99,77 %	99,88 %	99,88 %
Test TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing			
Caractéristique	PA ^a	NA ^b	OA ^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 tel que déterminé par la méthode de référence.

b. Une concordance négative (CN) 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 tel qu'indiqué par les méthodes de référence.

c. La concordance globale (CG) calculée à travers toutes les positions signalées en divisant le nombre de positions concordantes de type sauvage et de variants par le nombre total de positions signalées tel que déterminé par les méthodes de référence.

Résumé

TruSight Cystic Fibrosis offre une nouvelle configuration de trousse qui combine les tests TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant et TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing (anciennement, les tests MiSeqDx CF) en une seule solution. TruSight Cystic Fibrosis maintient le même flux de travail, les mêmes caractéristiques du produit et la même qualité en matière de performance et de données que les tests MiSeqDx Cystic Fibrosis 139-Variant et MiSeqDx Cystic Fibrosis Clinical Sequencing. Le test TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant combine un panel élargi de 139 variants avec la technologie de pointe SPG. Le test fournit des résultats précis pour une population multiethnique diversifiée et améliore la détection des couples à risque d'avoir un enfant atteint. Pour des renseignements plus approfondis sur la FK, le test TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing permet le séquençage du gène *CFTR* pour obtenir une vue d'ensemble du profil génétique non disponible dans les panels de génotypage moléculaires standards. Les données supplémentaires permettent d'éliminer les biais démographiques et de détecter avec précision deux grosses délétions, deux mutations introniques profondes et des indels dans les régions homopolymériques. TruSight Cystic Fibrosis offre une solution intégrée d'évaluation de la FK qui donne la possibilité aux cliniciens d'effectuer un dépistage de variants connus avant d'interroger le gène *CFTR* pour de nouvelles mutations.

En savoir plus

Pour en savoir plus à propos de TruSight Cystic Fibrosis, rendez-vous au www.illumina.com/TruSightCysticFibrosis.html.

Renseignements relatifs à la commande

Produit	N° de référence
TruSight Cystic Fibrosis	20036925
Instrument MiSeqDx	DX-410-1001
Trousse de réactifs MiSeqDx v3	20012552

Plateforme SPG souple pour les tests de DIV

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

- **TruSeq^{MC} Custom Amplicon Kit Dx** : Une trousse validée, approuvée par la FDA et marquée CE-DIV, permettant aux laboratoires cliniques de concevoir des tests SPG personnalisés.
- **Praxis^{MC} Extended RAS Panel** : Le premier SPG de 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 le Vectibix.

Déclarations relatives à l'utilisation prévue

Utilisation prévue du test TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant

Le test TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant d'Illumina est un système de diagnostic *in vitro* qualitatif utilisé pour détecter 139 mutations pertinentes au plan clinique provoquant la fibrose kystique et pour identifier des variants du gène régulateur de la perméabilité 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 en 2004 par l'American College of Medical Genetics (ACMG)⁶ et en 2011 par l'American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG)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 son 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 de diagnostic autonome. Le test est destiné à être utilisé sur l'instrument MiSeqDx d'Illumina.

Utilisation prévue du test TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing

Le test TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing d'Illumina est un système de séquençage ciblé de diagnostic *in vitro* qui reséquence les régions de codage des protéines et les limites intron-exon du gène régulateur de la perméabilité transmembranaire de la fibrose kystique (*CFTR*) dans l'ADN génomique isolé d'échantillons de sang entier périphérique d'origine humaine prélevé dans le K2EDTA. Le test détecte les variants de nucléotides uniques et les petits indel 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 de diagnostic autonome.

Références

1. Cystic Fibrosis Foundation. www.cff.org/What-is-CF/About-Cystic-Fibrosis/. Consulté le 10 novembre 2019.
2. Strom C. M., Crossley B., Buller-Buerkle A. et coll. Cystic fibrosis testing 8 years on: lessons learned from carrier screening and sequencign analysis. *Genet Med*. 2011; 13 (2) : 166–172.
3. Mirtajani S. B., Farnia P., Hassanzad M. et coll. Geographical distribution of cystic fibrosis; the past 70 years of data analysis. *Biomed and Biotech Res J*. 2017; 1 (2) : 105–112.
4. Rock M. J., Levy H., Zaleski C. et Farrell P. M. Factors accounting for a missed diagnosis after newborn screening. *Pediatr Pulmonol*. 2011; 46 (12) : 1166–1174.
5. Clinical and Functional Translation of CFTR. www.cftr2.org. Consulté le 10 novembre 2019.
6. Sosnay P. R., Siklosi K. R., Van Goor F. et coll. Defining the disease liability of variants in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene. *Nat Genet*. 2013; 45 : 1160–1167.
7. Watson M. S., Cutting G. R., Desnick R. J. et coll. Cystic fibrosis population carrier screening: 2004 revision of American College of Medical Genetics mutation panel. *Genet Med* 2004; 6 (5) : 387–391.
8. 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.

Illumina • Sans frais (États-Unis) 1-800-809-4566 • Tél. : 1-858-202-4566 • techsupport@illumina.com • www.illumina.com

© 2020 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. Doc # 100000121533 v00 FRA QB9188

illumina[®]

À utiliser à des fins de diagnostic *in vitro*. Communiquez avec un représentant d'Illumina pour connaître la disponibilité régionale du produit.

Doc # 100000121533 v00 FRA | 4
English source: 100000097789 v00