

Appel des variants
de séquençage
nouvelle génération
précis et conforme
à l'IVDR à l'aide
d'Illumina DRAGEN^{MC}
Server for
NextSeq^{MC} 550Dx
Instruments



Introduction

Les applications de séquençage de nouvelle génération (SNG) sont un élément indispensable à la réalisation de tests diagnostiques, notamment le dépistage néonatal, les tests de maladies génétiques et les tests oncologiques. Les tests de SNG de diagnostic doivent être faciles à adopter et à utiliser pour les laboratoires et être conformes aux réglementations essentielles qui sont conçues pour garantir le plus haut niveau de soins et protéger les patients.

Illumina DRAGEN Server for NextSeq 550Dx Instruments permet un appel des variants rapide et très précis pour les flux de travail de diagnostic à l'aide de la solution de préparation flexible de bibliothèques ciblées Illumina DNA Prep with Enrichment Dx. Basé sur la chimie transposomique liée aux billes, Illumina DNA Prep with Enrichment Dx offre une solution d'enrichissement ciblée flexible et facile à utiliser dans les applications de diagnostic *in vitro* (DIV). L'application d'analyse secondaire pour Illumina DNA Prep with Enrichment Dx s'exécute sur Illumina DRAGEN Server for NextSeq 550Dx Instruments, est conforme au règlement de l'Union européenne (UE) 2017/746 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* (IVDR, *In Vitro* Diagnostics Regulation) pour l'intégration aux flux de travail de diagnostic.

Cette note d'application présente une solution de l'ADN aux données qui associe la préparation de bibliothèques Illumina DNA Prep with Enrichment Dx le séquençage sur l'instrument NextSeq 550Dx et l'analyse secondaire à l'aide de l'application d'enrichissement sur Illumina DRAGEN Server for NextSeq 550Dx Instruments (figure 1). L'interface utilisateur graphique avancée d'Illumina Run Manager sur Illumina DRAGEN Server for NextSeq 550Dx Instruments permet une configuration conviviale de l'analyse de séquençage, une analyse secondaire automatisée des données et une compression des données rapide, efficace et sans perte à l'aide de la technologie d'archive des lectures d'origine (ORA, Original Read Archive)¹.

De plus, l'intégration directe avec les instruments NextSeq 550Dx réduit les interactions de l'utilisateur à un seul point de contact lors de la configuration de l'analyse et raccourcit le délai global d'obtention des résultats. Cette solution génère des données de séquençage de haute qualité et une détection précise des variants germinaux et somatiques lors des tests diagnostiques.

Méthodes

Préparation des échantillons

Pour l'évaluation de l'appel des variants germinaux, l'ADN génomique (ADNg) a été extrait des échantillons de référence du Coriell Institute (référence n° NA24631, NA24385, NA12877 et NA12878). Pour l'évaluation de l'appel des variants somatiques, huit répliquats d'ADN ont été extraits et préparés à l'aide d'échantillons de contrôle de SeraCare.

Préparation des bibliothèques

Les bibliothèques ont été préparées à l'aide d'Illumina DNA Prep with Enrichment Dx avec UD Indexes Set A (Illumina, référence n° 20051352) à partir de 50 ng d'entrée d'ADN pour la détection des variants germinaux et somatiques. L'enrichissement ciblé a été effectué à l'aide d'un panel d'exomes et d'un panel ciblant plus de 500 gènes du cancer.

Séquençage

Le séquençage sur l'instrument NextSeq 550Dx a été configuré à l'aide d'Illumina Run Manager inclus sur Illumina DRAGEN Server for NextSeq 550Dx Instruments. Les bibliothèques préparées ont été séquencées sur l'instrument NextSeq 550Dx en mode DIV avec High Output Reagent Kit v2.5 (300 cycles) IVD (Illumina, référence n° 20028871). La longueur de lecture appariée était de 2× 151 pb.



Figure 1 : Flux de travail précis, efficace et conforme à l'IVDR intégrant Illumina DRAGEN Server for NextSeq 550Dx Instruments.

Analyse des données

L'analyse des données avec l'application DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx a été configurée dans le cadre de la planification de l'analyse de séquençage avec Illumina Run Manager et a été lancée automatiquement une fois l'analyse de séquençage terminée. Cette configuration avec un point de contact unique permet d'éliminer la nécessité d'étapes manuelles pour lancer l'analyse secondaire après le séquençage. Une fois l'analyse lancée, l'instrument NextSeq 550Dx est disponible pour la prochaine analyse de séquençage (figure 2).

Les durées d'analyse de l'application d'analyse DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx ont été testées à l'aide des données générées avec NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 cycles) IVD (Illumina, référence n° 20028871). L'analyse de la durée d'analyse comprenait la génération de fichiers FASTQ, la compression ORA, la cartographie/l'alignement et l'appel des variants. Les fichiers FASTQ ont été compressés avec DRAGEN ORA Compression, qui offre des fichiers jusqu'à environ cinq fois plus petits, des transferts de fichiers plus rapides et des coûts de stockage de données réduits.

Pour la précision de l'appel des variants et la comparaison des durées d'analyse, les échantillons ont été alignés avec BWA-MEM (0.7.17)², traités avec SAMtools (1.15.1)³ et Picard (2.27.5)⁴ et analysés avec GATK 4.3.0⁵. La précision de l'appel des variants a été évaluée à l'aide de l'outil Illumina Variant Calling Assessment Tool (VCAT 4.1.0) en comparant chaque échantillon à un ensemble représentatif de la réalité. L'analyse a été effectuée sur une grappe de serveurs haute performance avec des nœuds de calcul CPU avec un traitement multifilière optimisé pour l'analyse.

Résultats

Les données ont démontré que l'application DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx produisait une analyse des données de séquençage de haute qualité et une détection précise des variants qui dépasse les performances observées avec le pipeline d'analyse BWA-GATK établi (tableau 1). La compression ORA sans perte incluse dans l'application DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx a donné lieu à une réduction considérable de la taille des fichiers (tableau 2), permettant ainsi de réaliser des économies significatives en matière de stockage de données et de ressources énergétiques. De plus, l'analyse germinale d'Illumina DNA Prep with Enrichment Dx, avec ou sans compression ORA, a lieu en une fraction du temps nécessaire à la réalisation de l'analyse BWA-GATK (figure 3).

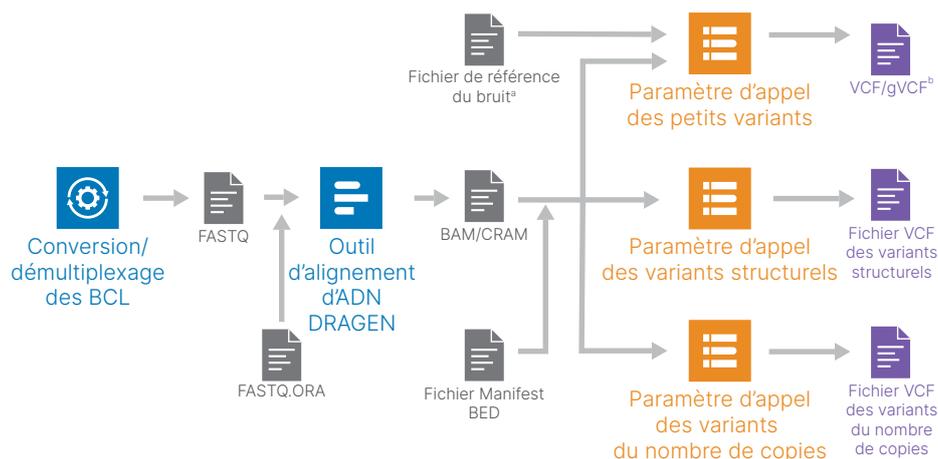


Figure 2 : Flux de travail de l'application DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx : l'analyse peut être configurée dans Illumina Run Manager pour démarrer automatiquement une fois l'analyse de séquençage terminée. Le flux de travail comprend la génération de fichiers FASTQ, la cartographie/l'alignement et l'appel des variants germinaux et somatiques. La compression ORA, d'une efficacité exceptionnelle, peut réduire la taille des fichiers FASTQ jusqu'à cinq fois.

a. L'application DRAGEN Baseline Builder peut être utilisée pour générer un fichier de référence du bruit personnalisé facultatif à utiliser en mode variant somatique.

b. Les fichiers gVCF ne sont pas générés avec l'appel des variants somatiques.

Tableau 1 : Comparaison de la précision de l'appel des variants germinaux en mode DIV

Pipeline	Précision des SNV	Rappel des SNV	SNV F1	Précision des indels	Rappel des indels	Indel F1
BWA-GATK	97,36 %	93,95 %	95,62 %	65,29 %	79,83 %	71,78 %
Application DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx	99,14 %	95,85 %	97,46 %	90,12 %	85,43 %	87,70 %

Tableau 2 : Performances de la compression ORA de l'application DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx

Taille du fichier FASTQ (Go)		
Taille du panel	Fastq.gz ^a	Fastq.ora
Grand panel (45 Mb)	86,8 Go	25,7 Go

a. Qzip est un outil de compression alternatif pour la sortie de fichiers de données de séquençage au format *.qz.

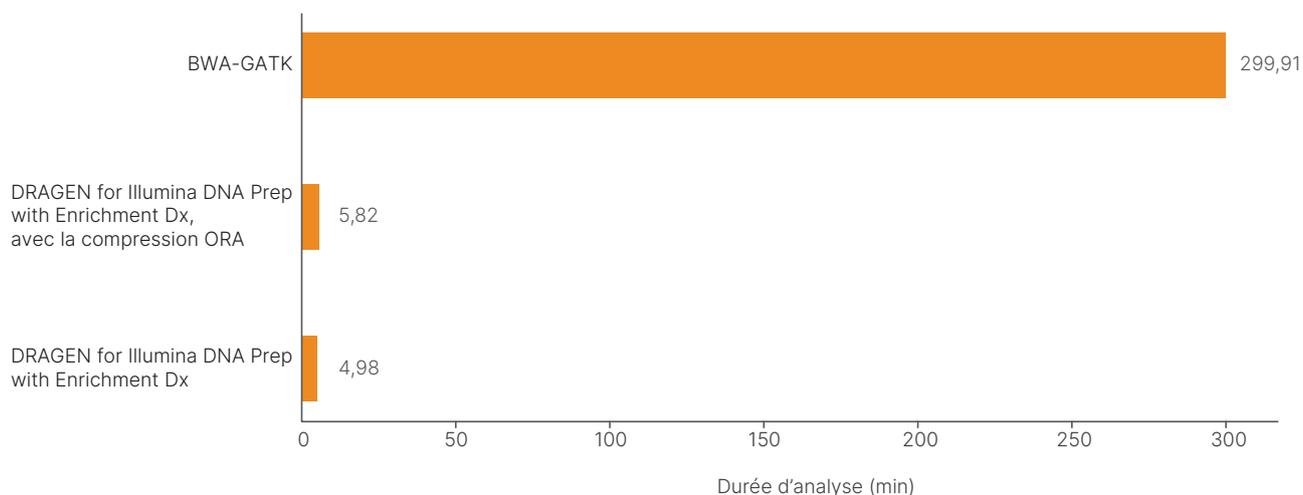


Figure 3 : Comparaison des durées d'analyse pour l'analyse DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx sur Illumina DRAGEN Server for NextSeq 550Dx Instruments par rapport à l'analyse BWA-GATK sur une plateforme informatique haute performance à 16 cœurs : les durées d'analyse moyennes pour l'analyse germinale de huit échantillons sont indiquées. Les données de séquençage ont été générées à l'aide d'un panel d'exomes de 42,5 Mb avec une profondeur de lecture de 200x.

Résumé

Illumina DRAGEN Server for NextSeq 550Dx Instruments élargit et simplifie l'offre de SNG de DIV d'Illumina avec l'analyse secondaire intégrée à l'aide du logiciel DRAGEN puissant et intuitif. Le serveur comprend Illumina Run Manager pour l'associer à l'instrument NextSeq 550Dx, ce qui permet aux utilisateurs de configurer l'analyse de séquençage et l'analyse secondaire dans le cadre de la configuration de l'analyse, minimisant ainsi les erreurs potentielles de la part de l'utilisateur en réduisant le nombre de points de contact. L'analyse commence

automatiquement après l'analyse de séquençage et l'instrument est disponible immédiatement pour lancer une autre analyse de séquençage, réduisant ainsi les temps d'arrêt. Associé à l'application DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx pour l'analyse secondaire, Illumina DRAGEN Server for NextSeq 550Dx Instruments offre aux laboratoires de diagnostic une analyse secondaire rationalisée, précise et conforme à l'IVDR pour l'appel des variants.

Renseignements relatifs à la commande

Produit	N° de référence
DRAGEN Server for NextSeq 550Dx Instruments	20086130
Instrument NextSeq 550Dx	20005715

En savoir plus

[DRAGEN Server for NextSeq 550Dx Instruments](#)

[Instrument NextSeq 550Dx](#)

[Illumina DNA Prep with Enrichment Dx](#)

[Application DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx](#)

[Règlement UE 2017/746 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*](#)

Références

1. Illumina. Illumina DRAGEN Server for NextSeq 550Dx Sequencing Instruments data sheet. illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/dragen-ivd-server-data-sheet-m-gl-01471/dragen-ivd-server-data-sheet-m-gl-01471.pdf. Publié le [en attente]. Consulté le [en attente].
2. Li H, Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics*. 2009;25(14):1754-1760. doi:10.1093/bioinformatics/btp324
3. Danecek P, Bonfield JK, Liddle J, et al. Twelve years of SAMtools and BCFtools. *Gigascience*. 2021;10(2):giab008. doi:10.1093/gigascience/giab008
4. Broad Institute. Picard. <https://broadinstitute.github.io/picard/>. Consulté le 12 décembre 2023.
5. McKenna A, Hanna M, Banks E, et al. The Genome Analysis Toolkit: a MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. *Genome Res*. 2010;20(9):1297-1303. doi:10.1101/gr.107524.110
6. Illumina. Variant Calling Assessment Tool. www.illumina.com/products/by-type/informatics-products/basespace-sequence-hub/apps/variant-calling-assessment-tool.html. Consulté le 12 décembre 2023.

Déclarations relatives à l'utilisation prévue

Illumina DNA Prep with Enrichment Dx (États-Unis)

Illumina DNA Prep with Enrichment Dx est un ensemble de réactifs et de consommables utilisés dans la préparation de bibliothèques d'échantillons à base d'ADN extrait de sang total périphérique et de tissus fixés au formol et inclus en paraffine (FFIP). Des panels de sondes fournis par l'utilisateur sont nécessaires pour la préparation de bibliothèques qui ciblent des régions génomiques d'intérêt spécifiques. Les bibliothèques d'échantillons ainsi générées sont destinées aux systèmes de séquençage d'Illumina.

Illumina DNA Prep with Enrichment Dx (CE-DIV)

Illumina DNA Prep with Enrichment Dx Kit est un ensemble de réactifs et de consommables utilisés pour préparer les bibliothèques d'échantillons à partir d'ADN génomique dérivé de cellules et de tissus humains dans le cadre de test de diagnostic *in vitro*. Des panels de sondes fournis par l'utilisateur sont nécessaires pour la préparation de bibliothèques qui ciblent des régions génomiques d'intérêt spécifiques. Les bibliothèques d'échantillons ainsi générées sont destinées aux systèmes de séquençage d'Illumina. Illumina DNA Prep with Enrichment Dx comprend un logiciel pour l'analyse, la surveillance et la configuration des analyses de séquençage.

Instrument NextSeq 550Dx (États-Unis)

L'instrument NextSeq 550Dx est destiné au séquençage ciblé de bibliothèques d'ADN provenant d'ADN génomique humain extrait de sang total périphérique ou de tissus fixés au formol et inclus en paraffine (FFIP), à utiliser avec les tests de diagnostic *in vitro* (DIV) réalisés sur l'instrument. L'instrument NextSeq 550Dx n'est pas destiné au séquençage de génome entier ni *de novo*. L'instrument NextSeq 550Dx doit être utilisé avec les réactifs de DIV enregistrés, répertoriés, homologués et approuvés ainsi qu'avec le logiciel d'analyse.

Instrument NextSeq 550Dx (Union européenne/autre)

L'instrument NextSeq 550Dx est destiné au séquençage ciblé de bibliothèques d'ADN provenant d'ADN génomique humain extrait de sang total périphérique ou de tissus fixés au formol et inclus en paraffine (FFIP), à utiliser avec les tests de diagnostic *in vitro* (DIV) réalisés sur l'instrument.

Illumina NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 cycles) (Union européenne)

La trousse Illumina NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 cycles) est un ensemble de réactifs et de consommables conçu pour le séquençage de bibliothèques d'échantillons, à utiliser avec des tests validés. La trousse est prévue pour une utilisation avec l'instrument NextSeq 550Dx et un logiciel d'analyse.



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

© 2023 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-GL-01470 FRA v1.0