

# TruSight<sup>™</sup> Oncology Comprehensive (EU)

Una soluzione IVD in kit  
con marchio CE per la  
mappatura genomica  
completa (CGP)

- Rilevamento dei biomarcatori attivabili in più di 28 tipi di tumori solidi con riduzione al minimo delle procedure biotiche sul paziente
- Valutazione contemporanea dei biomarcatori attuali ed emergenti rispetto alle linee guida per la pratica clinica, alle etichette dei farmaci e ai trial clinici
- Creazione di un report clinicamente rilevante e di facile lettura che agevoli l'assunzione di decisioni terapeutiche informate in 4-5 giorni
- Possibilità di diventare un fornitore di servizi di medicina di precisione proponendo i test CGP nel proprio istituto

**illumina**<sup>®</sup>

## La rivoluzione della diagnostica del cancro

La mappatura genomica completa (CGP, comprehensive genomic profiling) sta cambiando il volto della diagnostica del cancro. I test a biomarcatore singolo e i pannelli hotspot mirati non sono in grado di tenere il passo con l'incremento nel numero di biomarcatori attivabili, terapie approvate e trial clinici e accrescono così il rischio di perdere informazioni cruciali. Inoltre, tali metodi non sono in grado di rilevare alcune firme di risposta immunoterapica attuali o emergenti, come il carico mutazionale del tumore (TMB, tumor mutational burden). Una soluzione per raccogliere le sfide poste da un elenco in continua espansione di potenziali terapie e biomarcatori è la CGP basata sul sequenziamento di nuova generazione (NGS, next-generation sequencing). Con un unico test, la CGP offre una visione completa della genetica di un tumore, acquisendo informazioni su centinaia di biomarcatori e generando risultati clinicamente fruibili che possono portare a regimi terapeutici corrispondenti a livello molecolare e a migliori esiti per i pazienti.<sup>1-6</sup>

Offrire un test CGP internamente permette di ottenere numerosi vantaggi, tra cui la capacità di mantenere il controllo sulla biopsia e sui dati del paziente, per diventare validi fornitori di servizi di medicina di precisione e aumentare la propria partecipazione alla cura del paziente. Detto questo, la CGP può essere una soluzione complessa se attuata sotto forma di test sviluppato in laboratorio (LDT, laboratory-developed test). TruSight Oncology Comprehensive (EU) (TSO Comprehensive (EU)) facilita questo compito oneroso.

TSO Comprehensive (EU) è una soluzione IVD in kit convalidata con marchio CE, che mette a disposizione un flusso di lavoro CGP semplificato che inizia dal DNA o dall'RNA e termina con risultati clinicamente fruibili. Tutti i reagenti e le pipeline di identificazione di varianti sono ampiamente convalidati da Illumina per ridurre al minimo il tempo e l'impegno necessari per verificare una nuova soluzione e semplificare il processo di attuazione.

## Informazioni su TSO Comprehensive (EU)

TSO Comprehensive (EU) è il primo test IVD (*diagnostica in vitro*) in kit per la CGP disponibile in commercio a utilizzare sia il DNA sia l'RNA. La soluzione basata su NGS analizza contemporaneamente 517 geni associati al cancro di nota rilevanza clinica in un unico flusso di lavoro integrato (Figura 1, Tabelle 1-4). Il test include reagenti in kit per la preparazione della libreria e il sequenziamento, nonché pipeline software automatizzate per identificare le varianti, interpretare i risultati e produrre report clinicamente fruibili. Il sequenziamento viene eseguito sull'IVD NextSeq™ 550Dx System con marchio CE. Utilizzando questa soluzione, i laboratori possono fornire test CGP che generano informazioni tempestive e affidabili sui biomarcatori rilevanti, come indicato nella letteratura primaria, nelle linee guida, nelle etichette dei farmaci e nei trial clinici, in meno tempo e utilizzando un minor numero di campioni biotipici rispetto agli attuali metodi iterativi.

### Sequenziamento e analisi dei dati completamente automatizzati

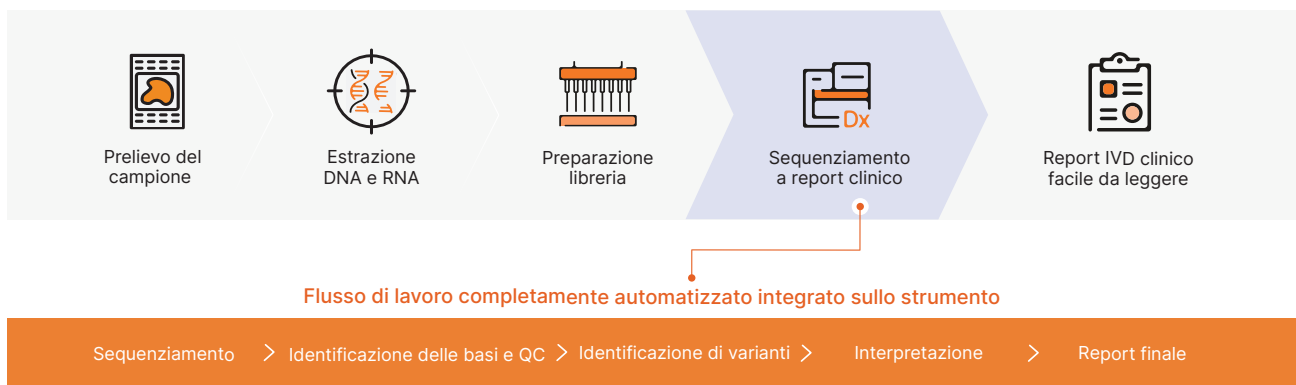


Figura 1: flusso di lavoro di TSO Comprehensive. È possibile analizzare in batch fino a sette campioni paziente e due campioni di controllo per corsa utilizzando TSO Comprehensive (EU). Le fasi di preparazione e arricchimento delle librerie richiedono 2 giorni. Il flusso di lavoro completamente automatizzato sul NextSeq 550Dx System sequenzia i campioni, completa l'identificazione delle basi e il QC, esegue l'identificazione e l'interpretazione di varianti, genera un report clinico. L'intero flusso di lavoro viene completato in 4-5 giorni.

Tabella 1: TSO Comprehensive (EU) in sintesi

Caratteristica	Descrizione <sup>a</sup>
Sistema di sequenziamento	NextSeq 550Dx System
Processività in termini di campioni paziente	Fino a 7 campioni paziente e 2 campioni di controllo (1 positivo e 1 NTC) per corsa di sequenziamento
Contenuto del pannello	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 517 geni per piccole varianti</li> <li>• 23 geni per fusioni</li> <li>• 2 geni per varianti di splicing (<i>MET</i>, <i>EGFR</i>)</li> <li>• 2 geni per amplificazioni (<i>ERBB2</i>, <i>MET</i>)</li> <li>• TMB e MSI</li> </ul>
Tipi di varianti rilevati	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Varianti di DNA: SNV, MNV, inserzioni, delezioni, amplificazioni geniche</li> <li>• Varianti dell'RNA: fusioni, varianti di splicing</li> <li>• Firme genomiche complesse: TMB e MSI</li> </ul>
Requisito di input di DNA	40 ng di DNA genomico
Requisito di input di RNA	40 ng di RNA totale
Requisito di input FFPE	Volume di tessuto consigliato $\geq 1 \text{ mm}^3$ di tessuto Contenuto tumorale minimo del 20% (per area) richiesto per rilevare le mutazioni driver somatiche, $\geq$ contenuto tumorale del 30% richiesto per rilevare MSI alto
N. di vetrini per biopsia	Almeno 5 consigliati (sezioni da 10 $\mu\text{M}$ , 20 $\text{mm}^2$ di area tissutale ciascuno)
Durata totale del saggio	4-5 giorni dall'acido nucleico al report clinico
Limite di rilevamento	Vedere l'Appendice
Falsi positivi per tipo di variante di DNA	Amplificazioni geniche, 0% Piccole varianti del DNA, 0,0001% MSI, 0% TMB, N/A
Falsi positivi per tipo di variante di RNA	Fusioni dell'RNA, 0% Varianti di splicing di RNA, 0%

a. NTC, nessun controllo del modello (No Template Control); N/A, non applicabile (Not Applicable).

## Mappatura completa dei biomarcatori

I test a gene singolo e i pannelli hotspot mirati presentano limiti relativi al numero di target analizzati e al tipo di varianti che possono essere rilevate. La CGP con TSO Comprehensive (EU) supera questi limiti relativi ai contenuti e analizza contemporaneamente 517 geni con associazioni tumorali note in più di 28 tipi di tumori solidi per mezzo di un unico saggio (Tabelle 2-4). Il test identifica diversi tipi di varianti del DNA e dell'RNA, comprese le varianti di singolo nucleotide (SNV, single nucleotide variant), le varianti di multipli nucleotidi (MNV, multiple nucleotide variant), le inserzioni/delezioni (indel), le amplificazioni geniche, le fusioni e le varianti di splicing (Figura 2). Inoltre, il test rileva i nuovi biomarcatori immunoterapici (ossia TMB<sup>7</sup> e instabilità microsatellitare (MSI, microsatellite instability)<sup>8-10</sup>). Il contenuto assicura una copertura significativa delle linee guida fondamentali per molteplici tipi di tumore e geni legati ai trial clinici (Figura 3, Tabella 5). La natura inclusiva di TSO Comprehensive (EU) ottimizza le possibilità di individuare un biomarcatore positivo.

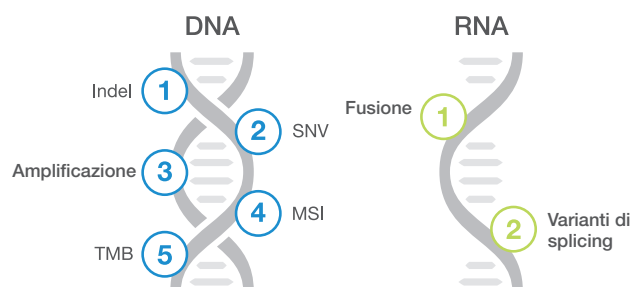


Figura 2: tipi di varianti e firme genomiche rilevate da TSO Comprehensive (EU)

## Indicazioni per la diagnostica di accompagnamento

Illumina ha avviato molteplici partnership con diverse aziende farmaceutiche per sviluppare una pipeline crescente di indicazioni per la diagnostica di accompagnamento (CDx). Queste informazioni aiuteranno a identificare i pazienti che risponderanno con maggiori probabilità a terapie specifiche. TSO Comprehensive (EU) è attualmente indicato come test CDx per identificare i pazienti affetti da cancro con tumori solidi positivi per le fusioni geniche di *NTRK1*, *NTRK2* o *NTRK3* per la terapia con VITRAKVI® (larotrectinib) in conformità all'etichettatura terapeutica approvata.<sup>11-13</sup> Ulteriori indicazioni su CDx, attualmente in fase di sviluppo, saranno incluse una volta ricevute le opportune approvazioni normative (Tabella 6).

Tabella 2: contenuto di DNA incluso in TSO Comprehensive (EU)

ABL1	BRCA2	CTNNB1	EWSR1	GATA1	IDH2	MAP3K13	NOTCH3	PNRC1	RPS6KA4	STK40
ABL2	BRD4	CUL3	EZH2	GATA2	IFNGR1	MAP3K14	NOTCH4	POLD1	RPS6KB1	SUFU
ACVR1	BRIP1	CUX1	FAM123B	GATA3	IGF1	MAP3K4	NPM1	POLE	RPS6KB2	SUZ12
ACVR1B	BTG1	CXCR4	FAM175A	GATA4	IGF1R	MAPK1	NRAS	PPARG	RPTOR	SYK
AKT1	BTK	CYLD	FAM46C	GATA6	IGF2	MAPK3	NRG1	PPM1D	RUNX1	TAF1
AKT2	C11orf30	DAXX	FANCA	GEN1	IKBKE	MAX	NSD1	PPP2R1A	RUNX1T1	TBX3
AKT3	CALR	DCUN1D1	FANCC	GID4	IKZF1	MCL1	NTRK1	PPP2R2A	RYBP	TCEB1
ALK	CARD11	DDR2	FANCD2	GLI1	IL10	MDC1	NTRK2	PPP6C	SDHA	TCF3
ALOX12B	CASP8	DDX41	FANCE	GNA11	IL7R	MDM2	NTRK3	PRDM1	SDHAF2	TCF7L2
ANKRD11	CBFB	DHX15	FANCF	GNA13	INHA	MDM4	NUP93	PREX2	SDHB	TERC
ANKRD26	CBL	DICER1	FANCG	GNAQ	INHBA	MED12	NUTM1	PRKAR1A	SDHC	TERT
APC	CCND1	DIS3	FANCI	GNAS	INPP4A	MEF2B	PAK1	PRKCI	SDHD	TET1
AR	CCND2	DNAJB1	FANCL	GPR124	INPP4B	MEN1	PAK3	PRKDC	SETBP1	TET2
ARAF	CCND3	DNMT1	FAS	GPS2	INSR	MET	PAK7	PRSS8	SETD2	TFE3
ARFRP1	CCNE1	DNMT3A	FAT1	GREM1	IRF2	MGA	PALB2	PTCH1	SF3B1	TFRC
ARID1A	CD274	DNMT3B	FBXW7	GRIN2A	IRF4	MITF	PARK2	PTEN	SH2B3	TGFBR1
ARID1B	CD276	DOT1L	FGF1	GRM3	IRS1	MLH1	PARP1	PTPN11	SH2D1A	TGFBR2
ARID2	CD74	E2F3	FGF10	GSK3B	IRS2	MLL/KMT2A	PAX3	PTPRD	SHQ1	TMEM127
ARID5B	CD79A	EED	FGF14	H3F3A	JAK1	MLLT3	PAX5	PTPRS	SLIT2	TMPPRSS2
ASXL1	CD79B	EGFL7	FGF19	H3F3B	JAK2	MPL	PAX7	PTPRT	SLX4	TNFAIP3
ASXL2	CDC73	EGFR	FGF2	H3F3C	JAK3	MRE11A	PAX8	QKI	SMAD2	TNFRSF14
ATM	CDH1	EIF1AX	FGF23	HGF	JUN	MSH2	PBRM1	RAB35	SMAD3	TOP1
ATR	CDK12	EIF4A2	FGF3	HIST1H1C	KAT6A	MSH3	PDCD1	RAC1	SMAD4	TOP2A
ATRX	CDK4	EIF4E	FGF4	HIST1H2BD	KDM5A	MSH6	PDCD1LG2	RAD21	SMARCA4	TP53
AURKA	CDK6	EML4	FGF5	HIST1H3A	KDM5C	MST1	PDGFRA	RAD50	SMARCB1	TP63
AURKB	CDK8	EP300	FGF6	HIST1H3B	KDM6A	MST1R	PDGFRB	RAD51	SMARCD1	TRAF2
AXIN1	CDKN1A	EPCAM	FGF7	HIST1H3C	KDR	MTOR	PDK1	RAD51B	SMC1A	TRAF7
AXIN2	CDKN1B	EPHA3	FGF8	HIST1H3D	KEAP1	MUTYH	PDPK1	RAD51C	SMC3	TSC1
AXL	CDKN2A	EPHA5	FGF9	HIST1H3E	KEL	MYB	PGR	RAD51D	SMO	TSC2
B2M	CDKN2B	EPHA7	FGFR1	HIST1H3F	KIF5B	MYC	PHF6	RAD52	SNCAIP	TSHR
BAP1	CDKN2C	EPHB1	FGFR2	HIST1H3G	KIT	MYCL1	PHOX2B	RAD54L	SOCS1	U2AF1
BARD1	CEBPA	ERBB2	FGFR3	HIST1H3H	KLF4	MYCN	PIK3C2B	RAF1	SOX10	VEGFA
BBC3	CENPA	ERBB3	FGFR4	HIST1H3I	KLHL6	MYD88	PIK3C2G	RANBP2	SOX17	VHL
BCL10	CHD2	ERBB4	FH	HIST1H3J	KRAS	MYOD1	PIK3C3	RARA	SOX2	VTCN1
BCL2	CHD4	ERCC1	FLCN	HIST2H3A	LAMP1	NAB2	PIK3CA	RASA1	SOX9	WISP3
BCL2L1	CHEK1	ERCC2	FLI1	HIST2H3C	LATS1	NBN	PIK3CB	RB1	SPEN	WT1
BCL2L11	CHEK2	ERCC3	FLT1	HIST2H3D	LATS2	NCOA3	PIK3CD	RBM10	SPOP	XIAP
BCL2L2	CIC	ERCC4	FLT3	HIST3H3	LMO1	NCOR1	PIK3CG	RECQL4	SPTA1	XPO1
BCL6	CREBBP	ERCC5	FLT4	HNF1A	LRP1B	NEGR1	PIK3R1	REL	SRC	XRCC2
BCOR	CRKL	ERG	FOXA1	HNRNPK	LYN	NF1	PIK3R2	RET	SRSF2	YAP1
BCORL1	CRLF2	ERRF1	FOXL2	HOXB13	LZTR1	NF2	PIK3R3	RFWD2	STAG1	YES1
BCR	CSF1R	ESR1	FOXO1	HRAS	MAGI2	NFE2L2	PIM1	RHEB	STAG2	ZBTB2
BIRC3	CSF3R	ETS1	FOXP1	HSD3B1	MALT1	NFKBIA	PLCG2	RHOA	STAT3	ZBTB7A
BLM	CSNK1A1	ETV1	FRS2	HSP90AA1	MAP2K1	NKX2-1	PLK2	RICTOR	STAT4	ZFXH3
BMPRI1A	CTCF	ETV4	FUBP1	ICOSLG	MAP2K2	NKX3-1	PMAIP1	RIT1	STAT5A	ZNF217
BRAF	CTLA4	ETV5	FYN	ID3	MAP2K4	NOTCH1	PMS1	RNF43	STAT5B	ZNF703
BRCA1	CTNNA1	ETV6	GABRA6	IDH1	MAP3K1	NOTCH2	PMS2	ROS1	STK11	ZRSR2

Il contenuto ombreggiato in grigio viene analizzato per individuare le amplificazioni geniche.






Pan-cancer: <i>BRAF, NTRK1, NTRK2, NTRK3, RET, MSI, TMB</i>													
Geni con biomarcatori di significato clinico*												Geni con biomarcatori di potenziale significato clinico†	
	<b>Seno</b>	<i>BRCA1</i>	<i>BRCA2</i>	<i>ERBB2</i>	<i>ESR1</i>	<i>PALB2</i>	<i>PIK3CA</i>					180	
	<b>Colon-retto</b>	<i>ERBB2</i>	<i>KRAS</i>	<i>NRAS</i>								166	
	<b>Ossa</b>	<i>EGFR</i>	<i>ERG</i>	<i>ETV1</i>	<i>ETV4</i>	<i>EWSR1</i>	<i>FEV</i>	<i>FLI1</i>	<i>FUS</i>	<i>H3F3A</i>	<i>HEY1</i>	<i>IDH1</i>	140
	<b>Polmone</b>	<i>ALK</i>	<i>EGFR</i>	<i>ERBB2</i>	<i>KRAS</i>	<i>MET</i>	<i>NUTM1</i>	<i>ROS1</i>					223
	<b>Melanoma</b>	<i>KIT</i>	<i>NRAS</i>	<i>ROS1</i>									172
	<b>Ovaie</b>	<i>BRCA1</i>	<i>BRCA2</i>	<i>FOXL2</i>									149
	<b>SNC‡</b>	<i>APC</i>	<i>ATRX</i>	<i>CDKN2A</i>	<i>CDKN2B</i>	<i>EGFR</i>	<i>H3F3A</i>	<i>HIST1H3B</i>	<i>HIST1H3C</i>	<i>IDH1</i>	<i>IDH2</i>	<i>MYCN</i>	140
	<b>Prostata</b>	<i>AR</i>	<i>ATM</i>	<i>BARD1</i>	<i>BRCA1</i>	<i>BRCA2</i>	<i>BRIP1</i>	<i>CDK12</i>	<i>CHEK1</i>	<i>CHEK2</i>	<i>FANCL</i>	<i>FGFR2</i>	151
	<b>Tiroide</b>	<i>HRAS</i>	<i>KRAS</i>	<i>NRAS</i>	<i>TERT</i>								165
	<b>Utero e cervice</b>	<i>BRCA2</i>	<i>EPC1</i>	<i>ERBB2</i>	<i>ESR1</i>	<i>FOXO1</i>	<i>GREB1</i>	<i>JAZF1</i>	<i>NCOA2</i>	<i>NCOA3</i>	<i>NUTM2A</i>	<i>NUTM2B</i>	138
	<b>Altri tumori solidi</b>	<i>ALK</i>	<i>APC</i>	<i>ARID1A</i>	<i>ASPSCR1</i>	<i>ATF1</i>	<i>ATIC</i>	<i>BAP1</i>	<i>BCOR</i>	<i>BRCA1</i>	<i>BRCA2</i>	<i>CAMTA1</i>	152
		<i>CARS</i>	<i>CCNB3</i>	<i>CDK4</i>	<i>CDKN2A</i>	<i>CIC</i>	<i>CITED2</i>	<i>CLTC</i>	<i>COL1A1</i>	<i>COL6A3</i>	<i>CREB1</i>	<i>CREB3L1</i>	
		<i>CREB3L2</i>	<i>CSF1</i>	<i>CTNNB1</i>	<i>DDIT3</i>	<i>DDX3X</i>	<i>DNAJB1</i>	<i>DUX4</i>	<i>EED</i>	<i>EGFR</i>	<i>ERBB2</i>	<i>ERG</i>	
		<i>ETV1</i>	<i>ETV4</i>	<i>ETV6</i>	<i>EWSR1</i>	<i>FEV</i>	<i>FGFR2</i>	<i>FGFR3</i>	<i>FLI1</i>	<i>FOXL2</i>	<i>FOXO1</i>	<i>FOXO4</i>	
		<i>FUS</i>	<i>GLI1</i>	<i>HEY1</i>	<i>HGF</i>	<i>HMGA2</i>	<i>IDH1</i>	<i>KRAS</i>	<i>LEUTX</i>	<i>MAML3</i>	<i>MDM2</i>	<i>MYB</i>	
		<i>MYOD1</i>	<i>NAB2</i>	<i>NCOA2</i>	<i>NF1</i>	<i>NFATC2</i>	<i>NFIB</i>	<i>NR4A3</i>	<i>NRAS</i>	<i>NUTM1</i>	<i>NUTM2A</i>	<i>NUTM2B</i>	
		<i>PALB2</i>	<i>PATZ1</i>	<i>PAX3</i>	<i>PAX7</i>	<i>PDGFB</i>	<i>PDGFRA</i>	<i>PRKACA</i>	<i>PRKD1</i>	<i>RANBP2</i>	<i>ROS1</i>	<i>SDHA</i>	
		<i>SDHB</i>	<i>SDHC</i>	<i>SDHD</i>	<i>SMARCB1</i>	<i>SS18</i>	<i>SSX1</i>	<i>SSX2</i>	<i>SSX4</i>	<i>STAT6</i>	<i>SUZ12</i>	<i>TAF15</i>	
		<i>TCF12</i>	<i>TERT</i>	<i>TFE3</i>	<i>TFEB</i>	<i>TFG</i>	<i>TP53</i>	<i>TPM3</i>	<i>TPM4</i>	<i>TRAF7</i>	<i>TSPAN31</i>	<i>VGLL2</i>	
		<i>WT1</i>	<i>WWTR1</i>	<i>YAP1</i>	<i>YWHAE</i>	<i>ZC3H7B</i>							

Figura 3: geni con biomarcatori attivabili fondamentali per molteplici tipi di tumori solidi. I geni elencati rappresentano un sottoinsieme dei geni presenti nel pannello TSO Comprehensive (EU). Analisi del contenuto fornita da Velsera sulla base del software IVD Knowledge Base v8.5 (febbraio 2023).

\* Geni collegati alle attuali linee guida o etichette dei farmaci.

† Basato su evidenza nella letteratura scientifica, presenza in trial clinici o collegamento a etichette in altre istologie.

‡ SNC, sistema nervoso centrale.

Tabella 3: contenuto di DNA incluso in TSO Comprehensive (EU)

ALK	BRAF	ERG	ETV4	FGFR3	NTRK1	PAX3	ROS1
AXL	EGFR	ESR1	FGFR1	KIF5B	NTRK2	RAF1	TMPRSS2
BCL2	EML4	ETV1	FGFR2	NRG1	NTRK3	RET	

Per i geni elencati vengono valutate le fusioni note e nuove.

Tabella 4: varianti di splicing incluse in TSO Comprehensive (EU)

EGFR	MET
------	-----

Tabella 5: copertura del contenuto di TSO Comprehensive (EU)

49 linee guida per la pratica clinica
117 etichette di farmaci
~680 trial clinici europei

Analisi prodotta da Velsera sulla base della Knowledge Base del software TSO Comprehensive (EU). Dati al febbraio 2023.

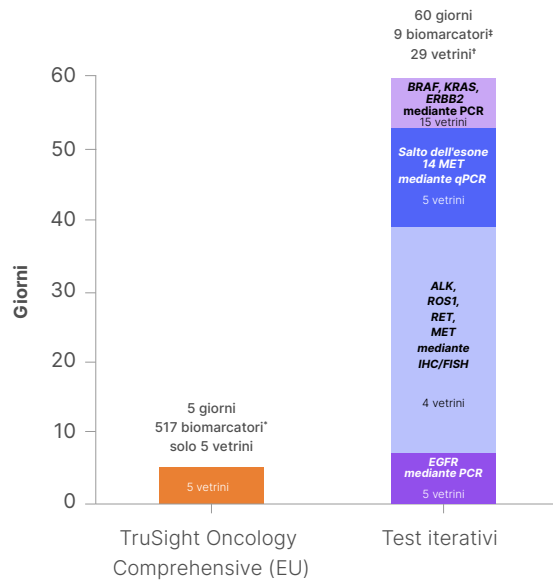
Tabella 6: indicazioni CDx

Indicazione CDx	Partner
tumori solidi positivi per le fusioni geniche di <i>NTRK1</i> , <i>NTRK2</i> o <i>NTRK3</i> per la terapia con VITRAKVI (larotrectinib)	Bayer <sup>11-13</sup>
In fase di sviluppo	
<i>ROS1</i>	Roche <sup>14</sup>
<i>RET</i>	Eli Lilly <sup>11</sup>
<i>EGFR</i>	Sviluppo interno
<i>HRD</i>	Myriad Genetics, Merck <sup>15,16</sup>
<i>TP53</i>	Kartos Therapeutics <sup>17</sup>
MSI	Bristol Myers Squibb <sup>15</sup>

Gli sviluppi delle indicazioni CDx riguardano l'intera gamma di prodotti TSO Comprehensive (EU). La disponibilità di ciascuna indicazione CDx dipende dall'area geografica e si basa sulle tempistiche variabili di approvazione di terapie e test della regione.

### Più informazioni, meno campioni, meno tempo

TSO Comprehensive (EU) fornisce un maggior numero di informazioni da un campione più piccolo, in meno tempo rispetto agli attuali metodi di test iterativi. Per esempio, un possibile percorso per un paziente con diagnosi di carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC, Non-Small Cell Lung Carcinoma) in base ai metodi di test convenzionali potrebbe richiedere sei diversi test, con 29 vetrini di campioni e oltre 42 giorni per ottenere i risultati relativi a nove biomarcatori, seguiti dai tempi per l'analisi e l'interpretazione necessari per sviluppare un piano terapeutico.<sup>18-23</sup> Al contrario, un test CGP con TSO Comprehensive (EU) richiede in genere cinque vetrini e fino a cinque giorni per generare un report fruibile con informazioni su oltre 500 biomarcatori, sulle possibili terapie e sui trial clinici (Figura 4).



\* include firme genomiche complesse  
 † Non include i vetrini necessari per la colorazione H&E o altra diagnosi iniziale  
 ‡ Non include biomarcatori nuovi come NTRK, TMB, MSI

Figura 4: vantaggi di TSO Comprehensive (EU) rispetto ai test iterativi. Esempio che mostra i potenziali percorsi di un paziente con NSCLC. La CGP con TSO Comprehensive (EU) offre una copertura sostanzialmente maggiore in meno tempo e con un campione più piccolo rispetto ai test iterativi a gene singolo.<sup>18-23</sup>

## Un solo report clinico fruibile e di facile lettura

I risultati di TSO Comprehensive (EU), supportati da una Knowledge Base curata da esperti, sono presentati in un singolo report semplificato e fruibile. Non è più necessario effettuare ricerche nei molteplici report ottenuti da test eseguiti in un determinato periodo di tempo per identificare le varianti significative. Il report di TSO Comprehensive (EU) utilizza un sistema a livelli per classificare le varianti in base al livello di rilevanza clinica e può quindi aiutare a prendere decisioni terapeutiche informate secondo le linee guida cliniche (Figura 5). Il report finale contiene:

- Informazioni sul campione paziente: numero ID del campione, tipo di tumore, sesso, analisi di QC, ID corsa e dettagli della Knowledge Base
- Risultati della diagnostica di accompagnamento: varianti o biomarcatori rilevati che hanno un uso previsto della diagnostica di accompagnamento valutati per il campione
- Risultati genomici con evidenza di significatività clinica: varianti rilevate con evidenza di significatività clinica (terapeutica, prognostica o diagnostica) in base alle informazioni contenute nelle etichette dei farmaci approvati dalla FDA, nelle etichette dei farmaci approvati dall'EMA, nelle linee guida per la pratica clinica di ASCO o nelle linee guida per la pratica clinica di ESMO per il tipo di tumore del paziente, come specificato nella Knowledge Base<sup>24\*</sup>
- Risultati genomici con possibile significatività clinica: varianti rilevate con possibile significatività clinica (terapeutica, prognostica o diagnostica) in base alle informazioni contenute nelle etichette dei farmaci approvati dalla FDA, nelle etichette dei farmaci approvati dall'EMA, nelle linee guida per la pratica clinica di ASCO o nelle linee guida per la pratica clinica di ESMO relative a un altro tipo di tumore, nei criteri di idoneità per la corrispondenza genomica e il tipo di tumore per un trial clinico o con evidenza di possibile significatività clinica nella letteratura primaria per il tipo di tumore del paziente, come specificato nella Knowledge Base e nel motore delle regole di supporto<sup>24\*</sup>

\* ASCO, American Society of Clinical Oncology; EMA, European Medicines Agency (Agenzia europea per i medicinali); ESMO, European Society for Medical Oncology (Associazione europea per l'oncologia medica); FDA, Federal Drug Administration.

## Soluzione convalidata

TSO Comprehensive (EU) è un test CGP convalidato dal campione alla risposta che include reagenti in kit, un sistema di sequenziamento (Tabella 7) e un software di analisi. Il test è stato sviluppato utilizzando un rigoroso processo di controllo della progettazione ed è stato convalidato su più di 350 campioni FFPE univoci e più di 55 diversi tipi di tumore. I risultati sono stati confrontati con metodi ortogonali per garantire dati accurati, riproducibili e coerenti.

## Uso di TSO Comprehensive (EU)

TSO Comprehensive (EU) mette a disposizione un flusso di lavoro semplificato che spazia dall'inserimento del campione al report clinico finale. Dopo un protocollo di preparazione della libreria della durata di 2 giorni, i campioni vengono caricati in una cella a flusso e nel sistema di sequenziamento, dove in modo completamente automatizzato viene svolta la parte restante del test, che comprende il sequenziamento, l'identificazione di varianti, l'interpretazione e la creazione del report. L'intero test, dall'estrazione dell'acido nucleico al report clinico, può essere completato in soli quattro giorni (Figura 1).

Tabella 7: studi di verifica con TSO Comprehensive (EU)

Studi di accuratezza e di bridging clinico per il rilevamento della fusione dei geni <i>NTRK1</i> , <i>NTRK2</i> e <i>NTRK3</i>	Stabilità delle librerie
Accuratezza analitica	Limite del bianco
Guardband del flusso di lavoro del saggio	Limite di rilevamento
Contaminazione incrociata	Valutazione di Nucleic Acid Extraction Kit
Valutazione dei controlli esterni	Stabilità in tempo reale
Guardband della titolazione dell'input di acido nucleico	Riproducibilità
Sostanze interferenti	Stabilità del tessuto in FFPE montato su vetrino
Stabilità durante l'uso del kit	Precisione all'interno del laboratorio
Stabilità del kit durante il trasporto	



illumina | TruSight™ Oncology Comprehensive (EU) FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE Report Date 2022-04-06

1 **1** **Sample ID Jane Doe** Run QC: PASS Run ID: 202013\_A0K550129\_0153\_AHCVENB0XX  
 Tumor Type: Breast Cancer RNA Library QC: PASS Analysis Date: 2022-04-06  
 Sex: Female DNA Library QC: PASS Knowledge Base Version: 6.8.0.0  
 V-DNA MS QC: PASS Knowledge Base Published Date: 2021-12-23  
 V-TSS Small Variant & TMB QC: PASS Module Version: 2.1.6.121  
 V-DNA Copy Number Variant QC: PASS Claims Package Version: 2.1.0.2

2 **Companion Diagnostic Results \***  
 Detected Variants/Biomarkers: Therapy: Usage: Details:  
**LMNA-NTRK1 Fusion** VTRAKV1@ (transcript) Indicated Type: Fusion  
 Breakpoint 1: chr1:156100562 | Breakpoint 2: chr1:156844696 | Fusion Supporting Reads: 64

3 **Genomic Findings with Evidence of Clinical Significance \***  
 No Detected Variants

4 **Genomic Findings with Potential Clinical Significance \***  
 TMB: 3.1 Mut/Mb MSI: MS-Stable

APC p.(Arg1450Ter) Type: SNV  
 WFS: 31.29% Consequence: Stop Gained | Nucleotide Change: NM\_000338.5:c.4348C>T | Genomic Position: chr5:112175639 | Reference Allele: C | Alternate Allele: T

\*Additional information in Informatics Details section

1 of 6

- 1 Informazioni sul campione paziente
- 2 Risultati della diagnostica di accompagnamento
  - Rilevati varianti/biomarcatori di diagnostica di accompagnamento e indicazioni terapeutiche associate
- 3 Risultati genomici con evidenza di significatività clinica
  - Nome della variante e dettagli genomici
- 4 Risultati genomici con potenziale significatività clinica
  - Comprende TMB, MSI

illumina | TruSight™ Oncology Comprehensive (EU) Sample ID: Jane Doe Tumor Type: Breast Cancer Module Version: 2.1.6.121 Knowledge Base Version: 6.8.0.0 Report Date: 2022-04-06

5 **Companion Diagnostics QC**  
**Companion Diagnostics Genomic Positions with Insufficient Coverage for Small Variant Detection**  
 The positions listed below did not have sufficient coverage for detecting small variants for the listed Companion Diagnostic intended use. Only Companion Diagnostic intended uses that were evaluated will be listed.

6 **Companion Diagnostics Intended Uses Evaluated**  
 The table below includes a column that indicates whether that Companion Diagnostic intended use was evaluated for this sample. If an intended use was not evaluated, a reason is listed. The columns shaded in gray below indicate the information that is sample-specific.

Tumor Type	Biomarkers	Therapy	CDx Intended Use Evaluated	Comment
Solid Tumor	NTRK1, NTRK2 & NTRK3 Gene Fusions	VTRAKV1@ (transcripts)	Yes	—

2 of 6

- 5 QC diagnostica di accompagnamento
  - Posizioni con copertura insufficiente per il rilevamento di piccole varianti
- 6 Usi previsti valutati della diagnostica di accompagnamento
  - Include il tipo di tumore, i biomarcatori e la terapia idonea

illumina | TruSight™ Oncology Comprehensive (EU) Sample ID: Jane Doe Tumor Type: Breast Cancer Module Version: 2.1.6.121 Knowledge Base Version: 6.8.0.0 Report Date: 2022-04-06

7 **About the Test**  
 The investigational device is the TruSight™ Oncology Comprehensive (TSO Comp) assay, an in vitro diagnostic test that uses targeted next generation sequencing to detect variants in genes extracted from formalin-fixed, paraffin embedded (FFPE) tumor tissue samples from cancer patients with solid malignant neoplasms using the Illumina® NextSeq™ 550Dx instrument. The test is intended as a companion diagnostic to identify cancer patients for treatment with the targeted therapies listed in the Companion Diagnostics Intended Uses Evaluation section for this report. In addition, the test is intended to provide tumor profiling information.

**Informatics Details**  
**Companion Diagnostics Results**  
 This section lists detected Companion Diagnostics variants/biomarkers and associated therapy indications for the patient for which this test is clinically validated.  
 If a Companion Diagnostic intended use does not match the patient's tumor type, or the associated variant/biomarker was not detected in the patient sample, then a result for the Companion Diagnostic intended use will not be listed here.

**Genomic Findings with Evidence of Clinical Significance**  
 This section lists detected variants that have evidence of clinical significance (therapeutic, prognostic or diagnostic) based on information in FDA-approved drug labels, EMA-approved drug labels, National Comprehensive Cancer Network (NCCN) Guidelines, American Society of Clinical Oncology (ASCO) Clinical Practice Guidelines, or European Society for Medical Oncology (ESMO) Clinical Practice Guidelines for the patient's tumor type, as specified by the Knowledge Base (curated by PierianDx).

**Genomic Findings with Potential Clinical Significance**  
 This section lists detected variants that have potential clinical significance (therapeutic, prognostic or diagnostic) based on information in FDA-approved drug labels, EMA-approved drug labels, NCCN Guidelines, ASCO Clinical Practice Guidelines, or ESMO Clinical Practice Guidelines in another tumor type, match genomic and tumor type eligibility criteria for a clinical trial, or have evidence of potential clinical significance in the primary literature for the patient's tumor type, as specified by the Knowledge Base (curated by PierianDx).

**Human Reference Genome**  
 This report uses genomic coordinates based on the hg19 human reference genome.

**Knowledge Base**  
 PierianDx provides the rules engine and curates the Knowledge Base, which are used for the classification of detected variants into Genomic Findings with Evidence of Clinical Significance and Genomic Findings with Potential Clinical Significance. For details on the content available in the Knowledge Base, refer to the release notes of the Knowledge Base version used to generate this report.

**Small Variants**  
 Small variants (insertions, deletions, single nucleotide variants [SNVs], and multiple nucleotide variants [MNVs]) are detected from DNA. Small variants included in the report will have the following information, as applicable: gene symbol, amino acid change, small variant type, variant allele frequency, consequence, transcript ID and nucleotide change, genomic position, reference allele, and alternate allele.

**Gene Amplifications**  
 Gene amplifications are detected from DNA and reflect a gain in the number of copies of a gene. A gene amplification is reported in terms of fold-change on normalized read depth in a testing sample relative to the normalized read depth in diploid genomes. Each gene amplification included in the report will have the following information: gene symbol, fold change value.

**Fusions**  
 Gene fusions are detected from RNA and occur when portions of two genes are translated together into a novel RNA product. Fusions are represented as a gene pair separated by either a "\*" or a "~". When separated by a "\*" the reported gene order corresponds to the transcripted orientation (5' to 3'). When separated by a "~", orientation could not be determined. Each fusion included in the report will have the following information: gene symbols, fusion breakpoints, and a count of fusion supporting reads.

2 of 6

- 7 Informazioni sul test
  - Descrizione dei risultati genomici
  - Revisione della Knowledge Base
  - Descrizione della variante
  - Limiti del test

illumina | TruSight™ Oncology Comprehensive (EU) Sample ID: Jane Doe Tumor Type: Breast Cancer Module Version: 2.1.6.121 Knowledge Base Version: 6.8.0.0 Report Date: 2022-04-06

8 **TruSight™ Oncology Comprehensive Assay Gene Panel**  
**Tumor Profiling Gene Panel\***

ABL1	ABL2	ABRXA51	ACV11	ACV18	ADGRA2	AKT1	AKT2
AKT3	ALK <sup>2</sup>	ALOX12B	AMER1	ANKRD11	ANKRD26	APC	AR
ARAF	ARFRP1	ARID1A	ARID1B	ARID2	ARID5B	ASXL1	ASXL2
ATM	ATR	ATRX	AURKA	AURKB	AUN1	AUN2	AXL <sup>2</sup>
B2M	BAP1	BAP3	BCL11	BCL2	BCL2L1	BCL2L2	BCL2L11
BCL2L2	BCL6	BCOR	BCORL1	BCR	BRCC1	BLM	BMP1A
BRAF <sup>2</sup>	BRCA1	BRCA2	BRD4	BRP1	BTG1	BTM	CAIR
CARD11	CAS9B	C8orf8	CBL	COD1	CND2	CND3	COR1
CD274	CD276	CD74	CD79A	CD79B	CDCT3	CDH1	CDK12
CDK4	CDK6	CDK8	CDKN1A	CDKN1B	CDKN2A	CDKN2B	CDKN2C
CEBPA	CENPA	CHD2	CHD4	CHEK1	CHEK2	CIC	COP1
CREBBP	CRKL	CLUF2	CSF1R	CSF3R	CSNK1A1	CTCF	CTLA4
CTNNA1	CTNNA3	CUL3	CUL1	CXCR4	CYLD	DAK1	DCM1D1
DOR2	DDIT4	DHXL15	DICER1	DES	DNAB1	DNMT1	DNMT3A
DNMT3B	DOT1L	EP303	EED	EGF7	EGFR <sup>1-3</sup>	EPI4K	EPI4K2
EP4E	ELOC	EML4 <sup>2</sup>	ENY1	EP300	EPICAM	EPHA2	EPHA5
EPHA7	EPH8	ERBB2 <sup>1</sup>	ERBB3	ERBB4	ERCC1	ERCC2	ERCC3
ERCC4	ERCC5	ERG <sup>1</sup>	ERRF1	ESR1 <sup>2</sup>	ETS1	ETV1 <sup>1</sup>	ETV4 <sup>2</sup>
ETV5	ETV6	EWSR1	EZH2	FAM46C	FANCA	FANCC	FANCD2
FANCF	FANCG	FANCI	FANCL	FAS	FAT1	FBN1	FBXW7
FGF1	FGF10	FGF4	FGF10	FGF7	FGF8	FGF9	FGF3
FGF5	FGF6	FGF7	FGF8	FGF9	FGFR1 <sup>2</sup>	FGFR2 <sup>2</sup>	FGFR3
FGFR4	FH1	FLCN	FLT1	FLT2	FLT3	FLT4	FMO1
FOL12	FOL13	FOLP1	FRS2	FURP1	FYN	GABRA6	GATA1
GATA2	GATA3	GATA4	GATA6	GEN1	GLI1	GLI2	GNAS1
GNAS1	GNAQ	GNAS	GPS2	GRB1	GRIN2A	GRM3	GSK3B
H3F3A	H3F3B	H3F3C	HGF	HIST1H1C	HIST1H2B	HIST1H3	HIST1H3B
HIST1H3C	HIST1H3D	HIST1H3E	HIST1H3F	HIST1H3G	HIST1H3H	HIST1H3I	HIST1H3J
HIST2H3A	HIST2H3C	HIST2H3D	HNF1A	HNRNPK	HNRNP33	HNRN	HNRN
HSD17B1	HSP90AA1	HSCGL1	ID1	IDH1	IDH2	IKZF1	IKZF2
IGF1R	IGF2	IKZF1	IL13	IL7R	INHA	INHA	INHA
INP44A	INP44B	INSR	IRF2	IRF4	IRS1	IRS2	JAK1

\*Small variants are called in all genes  
 1. Amplifications 2. Fusion 3. Splice variants

5 of 6

- 8 Informazioni sul test, continua
  - Geni e varianti testati

Figura 5: report clinico per TSO Comprehensive. La segnalazione comprende i risultati della diagnostica di accompagnamento e le varianti segnalate come clinicamente significative o potenzialmente significative dal punto di vista clinico sulla base di una Knowledge Base curata da esperti che include linee guida cliniche, etichette di farmaci, trial clinici e letteratura sottoposta a peer-review. L'output di facile lettura mira ad aumentare la fiducia nelle decisioni terapeutiche.



## Preparazione delle librerie

TSO Comprehensive (EU) può utilizzare come materiale di input il DNA e l'RNA estratti simultaneamente dallo stesso campione. Quando si utilizza il DNA, la preparazione dei campioni inizia con la frammentazione del DNA genomico (gDNA, genomic DNA). Quando si inizia dall'RNA, il primo passo è la trascrizione inversa del campione in DNA complementare (cDNA, complementary DNA). Il gDNA e il cDNA frammentati vengono convertiti simultaneamente in librerie pronte per il sequenziamento.

Durante la preparazione delle librerie, gli identificatori molecolari univoci (UMI, unique molecular identifier)<sup>25</sup> vengono aggiunti ai frammenti di gDNA o cDNA. Gli identificatori UMI consentono il rilevamento delle varianti a bassa frequenza allelica delle varianti (VAF, variant allele frequency) eliminando simultaneamente gli errori e fornendo un'elevata specificità.

## Arricchimento delle librerie per focalizzare gli sforzi

La preparazione delle librerie si basa sulla comprovata chimica di cattura mediante ibridazione che utilizza sonde biotinilate e microsfere magnetiche rivestite di streptavidina per purificare i target selezionati da librerie basate su DNA e RNA. Le regioni di interesse si ibridano sulle sonde biotinilate, vengono attratte magneticamente verso il basso e vengono quindi eluite per arricchire il pool di librerie. L'arricchimento basato sull'ibridazione è una strategia utile per l'analisi di specifiche varianti genetiche in un dato campione e consente di sequenziare in modo affidabile gli esomi o un ampio numero di geni (ad es. più di 50 geni).

La chimica di cattura mediante ibridazione offre diversi vantaggi rispetto al sequenziamento degli ampliconi, tra cui la produzione di dati con meno artefatti e dropout e la possibilità di gestire l'arricchimento di pannelli più grandi. Inoltre, la chimica di cattura mediante ibridazione non si basa sulla fusione e consente così il rilevamento e la caratterizzazione di fusioni sia note sia nuove.

## Sequenziamento con potere diagnostico

Le librerie preparate di TSO Comprehensive (EU) vengono sequenziate sul NextSeq 550Dx System (Figura 6). Il NextSeq 550Dx System è uno strumento IVD con marchio CE che consente ai laboratori clinici di sviluppare ed eseguire saggi IVD basati su NGS. Il NextSeq 550Dx System presenta le seguenti caratteristiche:

- Configurazione bloccata con controllo delle modifiche che consente ai laboratori di sfruttare le opzioni di test cliniche attuali e future
- Elevate capacità in termini di processività per espandere le operazioni per studi più estesi e approfonditi o per aumentare il numero di corse dei campioni paziente
- Analisi flessibile che spazia dal sequenziamento di piccoli pannelli alle applicazioni WGS e NGS e agli studi su microarray

Grazie alle cartucce di reagenti preriempite, l'avvio di una corsa su uno strumento NextSeq 550Dx è facile: lo scongelamento, il caricamento e l'avvio richiedono interventi manuali per un totale di 30 minuti circa. L'interfaccia intuitiva permette agli utenti di eseguire varie applicazioni con un addestramento o un tempo di configurazione dello strumento minimi. Lo strumento NextSeq 550Dx può fornire più di 90 Gb di dati di alta qualità con oltre il 75% delle basi sequenziate con un punteggio qualitativo (Q-score) pari a Q30 o superiore in meno di due giorni.<sup>26</sup>



Figura 6: NextSeq 550Dx System. Sviluppato sotto il controllo della progettazione e prodotto nel rispetto delle linee guida delle buone pratiche di fabbricazione (GMP, good manufacturing practice), NextSeq 550Dx System (nella modalità Dx) supporta un flusso di lavoro TSO Comprehensive (EU) completamente automatizzato, dal sequenziamento alla generazione del report clinico finale.

### Processività mediante raggruppamento dei pazienti

Utilizzando TSO Comprehensive (EU) con il NextSeq 550Dx System, i laboratori possono raggruppare fino a sette campioni paziente<sup>†</sup> con due controlli per corsa di sequenziamento in 4-5 giorni.

<sup>†</sup> Il numero di campioni paziente varia in base al numero di controlli eseguiti.

## Identificazione, interpretazione e segnalazione di varianti

Tutte le analisi per TSO Comprehensive (EU) vengono eseguite automaticamente sul NextSeq 550Dx System utilizzando il modulo di analisi TruSight Oncology Comprehensive (EU) di Local Run Manager. Il modulo integrato sullo strumento facilita la configurazione della corsa e l'esecuzione dell'analisi secondaria sui risultati del sequenziamento, che comprende demultiplexing, generazione di file FASTQ, allineamento e identificazione di varianti:

- Il demultiplexing separa i dati dalle librerie raggruppate in pool sulla base degli indici di sequenza unici aggiunti durante la procedura di preparazione delle librerie
- I file intermedi FASTQ contengono le letture di sequenziamento per ogni campione e i punteggi qualitativi (Q-score) ed escludono le letture provenienti da cluster che non hanno attraversato il filtro
- Le letture di sequenziamento vengono poi allineate con un genoma di riferimento per identificare una relazione tra le sequenze e viene loro assegnato un punteggio basato sulle regioni di somiglianza; le letture allineate vengono scritte nei file in formato Binary Alignment Map (BAM)
- Gli algoritmi separati per le librerie generate da campioni di DNA e RNA vengono utilizzati per identificare piccole varianti di DNA, amplificazioni geniche, TMB e MSI per i campioni di DNA, fusioni e varianti di splicing per i campioni di RNA ad alta specificità

Il modulo software di analisi genera molteplici file intermedi, tra cui metriche di sequenziamento e file VCF (Variant Call Format). I file VCF contengono informazioni sulle varianti trovate in posizioni specifiche in un genoma di riferimento. Per ogni campione vengono generati metriche di sequenziamento e singoli file di output.

L'analisi terziaria, anch'essa eseguita dal modulo di analisi TruSight Oncology Comprehensive di Local Run Manager, è composta dai calcoli di TMB e MSI, dalla mappatura del tumore delle varianti in due livelli di significatività clinica e dalla creazione di report. I risultati delle varianti interpretate, così come i risultati dei biomarcatori TMB e MSI, sono riassunti nel report dei risultati di TruSight Oncology Comprehensive. I medici possono utilizzare il report clinicamente fruibile per prendere decisioni terapeutiche informate nel rispetto delle linee guida per la pratica clinica, delle etichette dei farmaci e dei trial clinici.

## Knowledge Base solida dal punto di vista clinico

Il software TSO Comprehensive (EU) è supportato da una Knowledge Base e da un motore di regole di derivazione clinica e appositamente costruiti nel tempo per ottimizzare la fruibilità dei report. Il motore di regole e la Knowledge Base supportata, entrambi forniti da Velsera,<sup>27</sup> assicurano un'ampia copertura delle pubblicazioni sottoposte a peer-review, delle informazioni fruibili sulle varianti e dei più recenti trial clinici, linee guida ed etichette di farmaci (Tabella 8, Figura 7). Il software TSO Comprehensive (EU) utilizza questo ricco contenuto per determinare le classificazioni delle varianti genetiche rilevate.

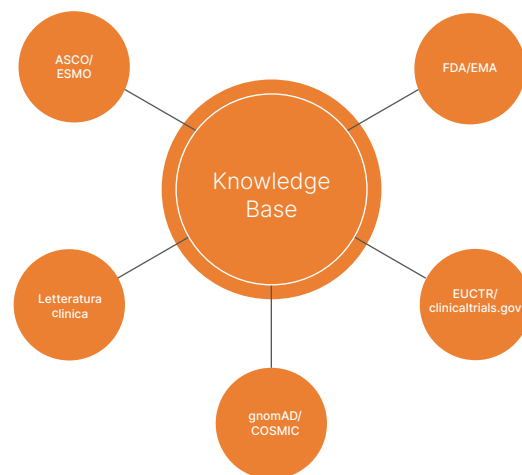


Figura 7: creazione della Knowledge Base. Il software di mappatura del tumore TSO Comprehensive (EU) è costruito su una base di regole ampiamente riviste. Le regole di origine, derivate dalle linee guida della pratica clinica, dalle etichette dei farmaci e dalla letteratura primaria, identificano e classificano le varianti fruibili. I dati dei trial clinici e dei database di annotazioni biologiche sono fonti indipendenti e autonome nella Knowledge Base.

## Contenuto curato da esperti e motore di regole

Per fornire interpretazioni accurate delle varianti rilevate, la Knowledge Base si basa su un motore di regole (entrambi sono forniti da Velsera) che collega varianti o biomarcatori specifici ad affermazioni sull'impatto clinico in vari tipi di tumore. Queste affermazioni sono aggregate da varie fonti cliniche, tra cui linee guida per la pratica clinica (es. ASCO, ESMO), etichette dei farmaci approvati (FDA, EMA), registri dei trial clinici (clinicaltrials.gov, EUCTR), letteratura primaria che descrive gli studi clinici (PubMed) e database di annotazioni biologiche (gnomAD, COSMIC)<sup>‡</sup> e possono avere associazioni di carattere terapeutico, prognostico o diagnostico.

Le prove a sostegno di queste affermazioni, note come regole di origine, sono curate da un team di scienziati altamente qualificati e sono sottoposte a una revisione approfondita basata su procedure rigorose. Dopo questa revisione, le regole di origine vengono ulteriormente esaminate in un processo di QC/QA del set di regole per garantire l'integrità degli aggiornamenti delle regole e per assicurare che tutti i campi obbligatori siano correttamente compilati.

Tabella 8: dati della Knowledge Base a marzo 2023<sup>a</sup>

Argomento	In numeri
Etichette dei farmaci	Oltre 300 etichette esaminate Oltre 13.000 pagine lette
Linee guida	Oltre 300 linee guida di pratica oncologica, ciascuna aggiornata numerose volte l'anno, esaminata Oltre 20.000 pagine lette
Letteratura pubblicata	Oltre 100.000 documenti esaminati Oltre 500.000 pagine lette
Trial clinici	Oltre 81.000 trial esaminati
Conformità dei dispositivi	Oltre 6.300 procedure, istruzioni di lavoro, moduli e registri esaminati Oltre 65.000 pagine lette

a. Il contenuto viene aggiornato mensilmente da Velsera per incorporare le ultime pubblicazioni, le scoperte sui biomarcatori, le linee guida, le etichette dei farmaci e i trial clinici.<sup>24</sup>

‡ ASCO, American Society of Clinical Oncology; COSMIC, Catalogue of Somatic Mutations In Cancer; EMA, European Medicines Agency (Agenzia europea per i medicinali); ESMO, European Society for Medical Oncology (Associazione europea per l'oncologia medica); EUCTR, European Clinical Trials Registry; FDA, Food and Drug Administration; gnomAD, Genome Aggregation Database.

Le regole di origine vengono poi riviste, classificate e selezionate in base alla loro rilevanza per un risultato genomico al fine di sviluppare regole di interpretazione. I paragrafi di interpretazione sono combinati in base al contenuto associato alle regole appropriate; i paragrafi includono anche i riferimenti al materiale di origine.

Sono previsti processi di test e di verifica della qualità per assicurare che nella Knowledge Base vengano aggiunti e mantenuti contenuti di alta qualità. Oltre alle revisioni descritte sopra, le affermazioni cliniche vengono estratte, per mezzo di flussi di lavoro indipendenti, da curatori qualificati che non fanno parte dei team che hanno creato le regole di origine o di interpretazione; le prestazioni complessive del software di mappatura del tumore e della Knowledge Base vengono quindi valutate a livello di concordanza, specificità e sensibilità. L'accuratezza dei contenuti curati viene determinata confrontando le classificazioni derivate dai metadati della Knowledge Base e dal software di mappatura del tumore con le classificazioni precedentemente riportate nel repository di dati clinici di Velsera. La Knowledge Base viene periodicamente sottoposta a revisione da parte di un gruppo di esperti composto da professionisti medici certificati e con licenza, patologi molecolari e medici oncologi.

Viene resa regolarmente disponibile<sup>24</sup> una Knowledge Base aggiornata che tiene conto di nuovi biomarcatori, modifiche alle linee guida, alle etichette dei farmaci e ai trial clinici e studi di ricerca clinica appena pubblicati. I fornitori di test IVD possono accedere facilmente alle nuove pubblicazioni per ottimizzare la loro capacità di estrarre informazioni fruibili da questo test CGP.

## Prestazioni elevate e affidabili

Le caratteristiche di prestazioni e l'affidabilità di TSO Comprehensive (EU) sono state ampiamente testate per soddisfare i rigorosi requisiti IVD. Le valutazioni hanno incluso uno studio sul limite del bianco, studi sul limite di rilevamento (LoD, limit of detection) per le varianti di DNA e RNA, la riproducibilità e l'accuratezza analitica (Appendice).<sup>13</sup> Gli studi qualitativi su molteplici operatori, strumenti, lotti di reagenti e giorni hanno mostrato un'elevata concordanza con una variazione minima.<sup>13</sup> Per informazioni dettagliate sugli studi eseguiti, vedere l'insero della confezione di Illumina TruSight Oncology Comprehensive (EU).<sup>13</sup>

## Introduzione di CGP nel laboratorio

CGP ottimizza la capacità di trovare biomarcatori fruibili e di fare scelte terapeutiche informate in grado di migliorare gli esiti per i pazienti. La CGP nel laboratorio aiuta a:

- Diventare fornitori di medicina di precisione implementando un test all'avanguardia e producendo risultati clinicamente fruibili in 4-5 giorni con tassi di quantità non sufficiente (QNS) ridotti e tassi di successo del test migliorati
- Essere pronti per il futuro: mantenendo l'accesso ai file di dati non elaborati e rianalizzandoli man mano che vengono introdotti nuovi trial clinici, linee guida ed etichette di farmaci, generando potenzialmente nuovi approfondimenti fruibili
- Diventare un partner di fiducia: consultando gli oncologi sulle decisioni terapeutiche e partecipando ai comitati sui tumori molecolari

### Attuazione facilitata

L'attuazione di un test CGP può richiedere tempo e sforzi significativi. Con l'introduzione di TSO Comprehensive (EU), Illumina ha affrontato alcune delle maggiori problematiche, semplificando il processo. Partendo da una soluzione IVD in kit altamente convalidata e con marchio CE:

- Riduce i tempi e le spese di attuazione del test rispetto a un test sviluppato in laboratorio (LDT, Laboratory-Developed Test) (Figura 8)
- Accelera il passaggio di CGP da una "nuova" offerta a un test di routine
- Fornisce un test conforme alla Direttiva sulla diagnostica *in vitro* (IVDD) pronto a soddisfare i requisiti del Regolamento sulla diagnostica *in vitro* (IVDR), aiutando i laboratori a prepararsi per rispettare le linee guida normative più rigorose

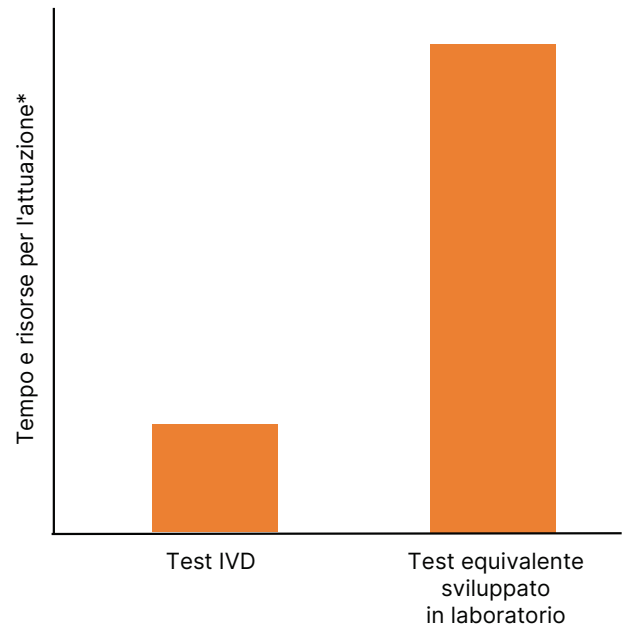


Figura 8: attuazione del test più semplice e meno onerosa. TSO Comprehensive (EU) è un test IVD con marchio CE che richiede soltanto la verifica delle prestazioni secondo ISO 15189, meno onerosa rispetto alla convalida richiesta per un test sviluppato in laboratorio.

\* Esempio illustrativo. Non intende fornire un confronto preciso di tempo e risorse.

### Supporto completo

È disponibile un programma di supporto completo che aiuterà i laboratori ad accelerare l'attuazione e la certificazione con il fine di garantire un'integrazione semplificata. Il programma prevede:

- Piano di integrazione per accelerare la verifica dei test
- Formazione del laboratorio, comprese istruzioni per i laboratori umidi (wet-lab) e valutazioni della corsa da parte del team di esperti specialisti dell'applicazione sul campo di Illumina
- Protocollo di verifica
- Certificazione della formazione
- Assistenza tecnica 24/5
- Supporto continuo da parte del team Medical Affairs di Illumina per le richieste di informazioni mediche

Inoltre, Illumina fornisce agli utenti IVD l'accesso a risorse didattiche e di marketing pronte all'uso da condividere con gli operatori sanitari locali per aiutarli a comprendere il valore dei test CGP.

## Accesso ai rimborsi

La copertura del test CGP è una considerazione importante nel momento in cui si introduce la capacità all'interno del laboratorio. I rimborsi variano in base al Paese, all'ambiente clinico e ai servizi forniti. Attualmente, in alcuni Paesi europei sono previsti finanziamenti di carattere nazionale o regionale (Figura 9). Illumina ha istituito un team Market Access dedicato che sta lavorando attivamente con gli enti paganti per ampliare ulteriormente il rimborso dei test CGP in tutto il mondo.

È possibile discutere delle opzioni di copertura disponibili con il responsabile di zona di Illumina.

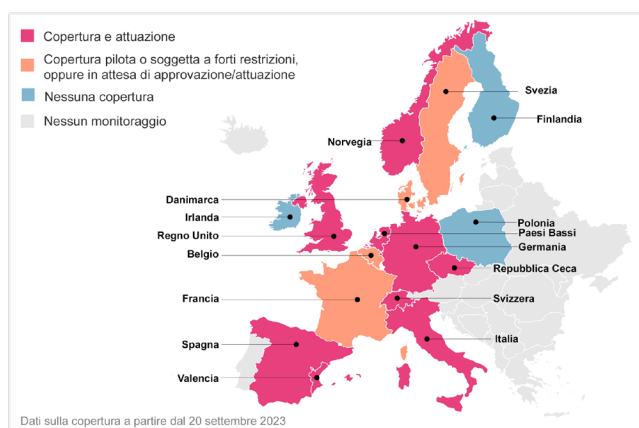


Figura 9: opzioni di copertura dei test CGP in tutta Europa. Dati aggiornati al 20 settembre 2023.

## Riepilogo

L'uso dei test CGP sta assicurando esiti migliori per i pazienti. L'attuazione dei test CGP nel proprio laboratorio con TSO Comprehensive (EU) risulta semplificata. Questo test CGP verificato mette a disposizione un flusso di lavoro semplificato, reagenti convalidati e un software clinico automatizzato per passare dal campione al report clinico in soli 4-5 giorni. Partendo dal DNA e dall'RNA, TSO Comprehensive (EU) consente di analizzare molteplici tipi di varianti in oltre 500 geni con un unico test. È possibile produrre un report finale chiaro e clinicamente rilevante, che identifica con accuratezza le mutazioni attivabili che possono essere utilizzate per prendere decisioni informate riguardo a potenziali terapie o trial clinici abbinati, secondo fonti riconosciute, che potrebbero migliorare l'esito per il paziente.

## Maggiori informazioni

TruSight Oncology Comprehensive (EU), [illumina.com/tsocomprehensive](https://illumina.com/tsocomprehensive)

Mappatura genomica completa (CGP), [illumina.com/cgp](https://illumina.com/cgp)

NextSeq 550Dx System, [illumina.com/nextseq550dx](https://illumina.com/nextseq550dx)

## Informazioni per gli ordini

Prodotto	N. di catalogo
TruSight Oncology Comprehensive (EU) Kit	20063092
TruSight Oncology DNA Control	20065041
TruSight Oncology RNA Control	20065042
NextSeq 550Dx instrument	20005715
NextSeq 550Dx High-Output Reagent Kit v2.5 (300 cycles) <sup>a</sup>	20028871

a. I materiali di consumo per il sequenziamento di Classe I prevedono la spedizione di un lotto singolo, il test su lotti di kit, la notifica anticipata delle modifiche e la disponibilità di un Certificato di analisi per ciascun lotto. I reagenti sono sviluppati in base ai principi di controllo della progettazione, fabbricati in base alle attuali buone pratiche di fabbricazione (cGMP, current good manufacturing practices) e verificati per assicurare la conformità alle specifiche.

## Appendice

### Studio sul limite del bianco

Basso numero di falsi positivi per TSO Comprehensive (EU)

Parametro	Valore
Falsi positivi per piccole varianti di DNA	0,0001%
Falsi positivi per le amplificazioni geniche	0%
Falsi positivi per MSI	0%
Falsi positivi per fusioni di RNA	0%
Falsi positivi per varianti di splicing dell'RNA	0%

I falsi positivi sono stati valutati con uno studio del limite del bianco utilizzando campioni FFPE normali o benigni prelevati da tessuti adiacenti. I falsi positivi non sono stati analizzati per il TMB in quanto non vi è alcun valore di cutoff clinico.

### Studi sul limite di rilevamento (LoD)

#### LoD—varianti di splicing

Variante di splicing	LoD
<i>MET</i>	18,7
<i>EGFR</i>	24,8

I campioni in FFPE ottenuti da 17 tipi di tessuto contenenti varianti sono stati diluiti a molteplici livelli di test. Due operatori hanno generato sei osservazioni per livello, ciascuna utilizzando un lotto di reagenti e uno strumento diversi. LoD è definito come il valore più basso dell'analita (per esempio la frequenza allelica delle varianti o le letture di supporto) rilevabile in modo coerente (limite di rilevamento del 95% o errore di tipo II del 5%).

#### LoD - Fusioni e varianti di splicing dell'RNA

Fusione	LoD
<i>NCOA4-RET</i>	10
<i>TMPRSS2-ERG</i>	13,2
<i>KIF5B-RET</i>	14,5
<i>ACPP-ETV1</i>	17,2
<i>FGFR3-TACC3</i>	17,5
<i>EML4-ALK</i>	20,2
<i>FGFR1-GSR</i>	23,7
<i>EGFR-GALNT13</i>	24
<i>ESR1-CCDC170</i>	24,3
<i>FGFR2-SRPK2</i>	24,7
<i>HNRNPUL1-AXL</i>	26,3
<i>CD74-ROS1;GOPC</i>	28,2
<i>SPIDR-NRG1</i>	28,2
<i>RAF1-VGLL4</i>	28,5
<i>DHX8;ETV4-STAT3</i>	30,5
<i>MKRN1-BRAF</i>	31,2
<i>BCL2-IGHJ5</i>	44,2
<i>PAX3-FOXO1</i>	54,7

I campioni in FFPE ottenuti da 17 tipi di tessuto contenenti varianti sono stati diluiti a molteplici livelli di test. Due operatori hanno generato sei osservazioni per livello, ciascuna utilizzando un lotto di reagenti e uno strumento diversi. LoD è definito come il valore più basso dell'analita (per esempio la frequenza allelica delle varianti o le letture di supporto) rilevabile in modo coerente (limite di rilevamento del 95% o errore di tipo II del 5%).

LoD - Piccole varianti e amplificazioni geniche del DNA

Tipo (unità di misura del LoD)	Classe della variante/ Contenuto genomico	N. di varianti	Intervallo
Varianti piccole di DNA (frequenza allelica delle varianti)	SNV	5	0,016-0,064
	MNV	3	0,022-0,048
	Inserzione (1-2 bp) prossima a ripetizioni omopolimeriche	2	0,086-0,104
	Inserzione (1-2 bp) prossima a ripetizioni dinucleotidiche	2	0,038-0,051
	Inserzione (3-5 bp)	2	0,030-0,056
	Inserzione (>5 bp e fino a 25 bp)	3	0,034-0,215
	Delezione (1-2 bp) prossima a ripetizioni omopolimeriche	2	0,094-0,100
	Delezione (1-2 bp) prossima a ripetizioni dinucleotidiche	2	0,033-0,070
	Delezione (3-5 bp)	2	0,028-0,064
	Delezione (>5 bp e fino a 25 bp)	2	0,047-0,055
Amplificazioni geniche (variazione)	Per gene ( <i>ERBB2</i> , <i>MET</i> )	2	2,034-2,195

I campioni in FFPE ottenuti da 17 tipi di tessuto contenenti varianti sono stati diluiti a molteplici livelli di test. Due operatori hanno generato sei osservazioni per livello, ciascuna utilizzando un lotto di reagenti e uno strumento diversi. LoD è definito come il valore più basso dell'analisi (per esempio la frequenza allelica delle varianti o le letture di supporto) rilevabile in modo coerente (limite di rilevamento del 95% o errore di tipo II del 5%).

Riproducibilità per gli studi di mappatura del tumore

Riproducibilità della mappatura del tumore - Amplificazioni geniche

Gene target	Variazione media <sup>a</sup>	PPC	95% IC <sup>b</sup>
<i>MET</i>	5,14	100,0%	92,6%, 100,0%
<i>ERBB2</i>	2,33	100,0%	92,4%, 100,0%

La riproducibilità è stata testata in tre centri (uno interno, due esterni), con due operatori per centro, tre lotti di reagenti, quattro giorni di test e varie corse di sequenziamento per libreria utilizzando 41 campioni di tessuto FFPE e una linea cellulare. PPC, identificazione positiva percentuale (Percent Positive Call); IC, intervallo di confidenza (Confidence Interval)

- a. Variazione media calcolata dai risultati del saggio osservati.
- b. IC bilaterale al 95% calcolato utilizzando il metodo del punteggio di Wilson.

Riproducibilità per la mappatura del tumore - MSI

Componente del pannello	Punteggio MSI medio <sup>a</sup>	PPC	95% IC <sup>b</sup>
<i>TPSBD4</i>	60,5	100,0% (36/36)	90,4%, 100,0%
<i>TPSBD6</i>	55,7	100,0% (32/32)	89,3%, 100,0%
Tutti i componenti		100,0% (68/68)	94,7%, 100,0%

La riproducibilità è stata testata in tre centri (uno interno, due esterni), con due operatori per centro, tre lotti di reagenti, quattro giorni di test e varie corse di sequenziamento per libreria utilizzando 41 campioni di tessuto FFPE e una linea cellulare. PPC, identificazione positiva percentuale (Percent Positive Call); IC, intervallo di confidenza (Confidence Interval)

- a. Punteggio MSI medio calcolato dai risultati del saggio osservati.
- b. IC bilaterale al 95% calcolato utilizzando il metodo del punteggio di Wilson.



## Riproducibilità per la mappatura del tumore - Piccole varianti del DNA

Gene	Tipo di variante	Variante target (amminoacido)	VAF media <sup>a</sup>	PPC	95% IC <sup>b</sup>
<i>APC</i>	Delezione	L1488fsTer19	0,181	100,0% (28/28)	87,9%, 100,0%
<i>APC</i>	Delezione	S1465WfsTer3	0,166	100,0% (40/40)	91,2%, 100,0%
<i>APC</i>	Inserzione	T1556NfsTer3	0,227	100,0% (32/32)	89,3%, 100,0%
<i>APC</i>	Inserzione	S1465fs*9	0,100	100,0% (48/48)	92,6%, 100,0%
<i>ARID1A</i>	Inserzione	Q372fs*28	0,084	100,0% (4/4)	51,0%, 100,0%
<i>BRAF</i>	SNV	V600E	0,045	91,3% (42/46)	79,7%, 96,6%
<i>EGFR</i>	Delezione	E746_A750del	0,112	100,0% (46/46)	92,3%, 100,0%
<i>EGFR</i>	SNV	L858R	0,045	100,0% (38/38)	90,8%, 100,0%
<i>EP300</i>	Delezione	H2324fs*29	0,245	100,0% (44/44)	92,0%, 100,0%
<i>ERBB2</i>	Inserzione	Y772_A775dup	0,075	100,0% (36/36)	90,4%, 100,0%
<i>IDH1</i>	SNV	R132H	0,155	100,0% (36/36)	90,4%, 100,0%
<i>KRAS</i>	MNV	G12I	0,111	100,0% (38/38)	90,8%, 100,0%
<i>NOTCH1</i>	Inserzione	R1598fs*12	0,146	100,0% (48/48)	92,6%, 100,0%
<i>PTEN</i>	Delezione	T319fs*1	0,157	100,0% (44/44)	92,0%, 100,0%
<i>TP53</i>	Inserzione	P152_P153dup	0,157	100,0% (2/2)	34,2%, 100,0%
<i>TP53</i>	Inserzione	R333HfsTer5	0,154	100,0% (48/48)	92,6%, 100,0%

La riproducibilità è stata testata in tre centri (uno interno, due esterni), con due operatori per centro, tre lotti di reagenti, quattro giorni di test e varie corse di sequenziamento per libreria utilizzando 41 campioni di tessuto FFPE e una linea cellulare. VAF, frequenza allelica delle varianti (Variant Allele Frequency); PPC, identificazione positiva percentuale (Percent Positive Call); IC, intervallo di confidenza (Confidence Interval)

a. VAF medio calcolato dai risultati del saggio osservati.

b. IC bilaterale al 95% calcolato utilizzando il metodo del punteggio di Wilson.

Riproducibilità per la mappatura del tumore - Varianti dell'RNA

Variante target	Tipo di variante	Media letture di supporto	PPC	95% IC <sup>b</sup>
<i>ACPP-ETV1</i>	Fusione	44,7	100,0% (46/46)	92,3%, 100,0%
<i>BCL2-IGHJ5</i>	Fusione	124,9	100,0% (46/46)	92,3%, 100,0%
<i>CD74-ROS1;GOPC</i>	Fusione	56,6	100,0% (48/48)	92,6%, 100,0%
<i>DHX8;ETV4-STAT3</i>	Fusione	48,9	100,0% (46/46)	92,3%, 100,0%
<i>EGFR-GALNT13</i>	Fusione	49,8	100,0% (46/46)	92,3%, 100,0%
<i>EML4-ALK</i>	Fusione	49,3	100,0% (48/48)	92,6%, 100,0%
<i>ESR1-CCDC170</i>	Fusione	45,1	100,0% (46/46)	92,3%, 100,0%
<i>FGFR1-GSR</i>	Fusione	61,1	100,0% (46/46)	92,3%, 100,0%
<i>FGFR2-SRPK2</i>	Fusione	53,4	100,0% (48/48)	92,6%, 100,0%
<i>FGFR3-TACC3</i>	Fusione	53,5	100,0% (48/48)	92,6%, 100,0%
<i>HNRNPUL1-AXL</i>	Fusione	58,0	100,0% (48/48)	92,6%, 100,0%
<i>KIF5B-RET</i>	Fusione	11,6	91,7% (44/48)	80,4%, 96,7%
<i>MKRN1-BRAF</i>	Fusione	33,4	100,0% (48/48)	92,6%, 100,0%
<i>PAX3-FOXO1</i>	Fusione	70,1	100,0% (48/48)	92,6%, 100,0%
<i>RAF1-VGLL4</i>	Fusione	15,9	100,0% (46/46)	92,3%, 100,0%
<i>SPIDR-NRG1</i>	Fusione	51,5	100,0% (48/48)	92,6%, 100,0%
<i>TMPRSS2-ERG</i>	Fusione	43,5	97,9% (47/48)	89,1%, 99,6%
<i>EGFR VIII</i>	Variante di splicing	64,0	100,0% (46/46)	92,3%, 100,0%
<i>Salto di MET esone 14</i>	Variante di splicing	61,2	100,0% (48/48)	92,6%, 100,0%

La riproducibilità è stata testata in tre centri (uno interno, due esterni), con due operatori per centro, tre lotti di reagenti, quattro giorni di test e varie corse di sequenziamento per libreria utilizzando 41 campioni di tessuto FFPE e una linea cellulare. L'identificazione negativa percentuale (PNC, Percent Negative Call) è stata del 100% per ogni variante dell'RNA target, fatto salvo il caso della fusione di *FGFR2-SRPK2* (PNC = 99,60% (984/988); IC al 95%: da 98,96% a 99,84%). PPC, identificazione positiva percentuale; IC, intervallo di confidenza

a. Le letture di supporto medie calcolate dai risultati del saggio osservati.

b. IC bilaterale al 95% calcolato utilizzando il metodo del punteggio di Wilson.

## Studi sull'accuratezza analitica

### Accuratezza analitica - Varianti del DNA e MSI

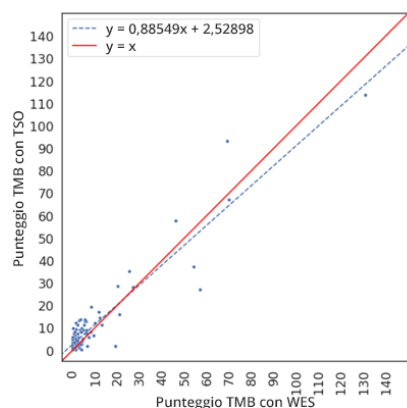
Tipo di variante	Metodo ortogonale	PPA	NPA
Piccole varianti del DNA (somatiche)	WES	85% (382/451) (IC 95%: 81%-87%)	99,999% (70.000.481/70.000.907) (IC 95%: 99,999%-99,999%)
Piccole varianti del DNA (germinali)	WES	99,8% (33.163/33.224) (IC 95%: 99,8%-99,9%)	99,999% (70.000.481/70.000.907) (IC 95%: 99,999%-99,999%)
Amplificazioni geniche	WES	92% (337/365) (IC 95%: 89%, 95%)	98,3% (24.000/24.415) (IC 95%: 98,1%, 98,5%)
MSI	MSI-PCR	93% (40/43) (IC 95%: 81%, 98%)	99% (150/152) (IC 95%: 95%, >99%)

La capacità di TSO Comprehensive (EU) di rilevare le alterazioni in centinaia di campioni FFPE è stata confrontata con i risultati ottenuti impiegando il metodo di riferimento indicato. Almeno il 48% delle varianti somatiche rilevate da TSO Comprehensive (EU) non venivano rilevate da WES a causa delle frequenze alleliche inferiori alla soglia di WES. I dati di WES dimostrano inoltre la presenza di ulteriori varianti rilevate da TSO Comprehensive (EU), ma con ridotto supporto delle identificazioni WES. Questo suggerisce che tali varianti non venivano individuate nella mappatura del tumore effettuata con WES a causa della normale contaminazione. NPA, concordanza percentuale negativa (Negative Percent Agreement); PPA, concordanza percentuale positiva (Positive Percent Agreement); WES, sequenziamento dell'intero esoma (Whole-Exome Sequencing)

### Accuratezza analitica - Varianti dell'RNA

Tipo di variante	Metodo ortogonale	PPA	NPA
Fusioni	<ul style="list-style-type: none"> <li>Sequenziamento dell'intero esoma dell'RNA (RNGS1)</li> <li>Pannello di fusione NGS target (RNGS2)</li> <li>PCR digitale su goccioline (ddPCR)</li> </ul>	82% (63/77) (IC 95%: 72%, 89%)	99,9% (13.821/13.839) (IC 95%: 99,8%, 99,9%)
Varianti di splicing	qPCR	57% (4/7) (IC 95%: 25%, 84%)	100% (230/230) (IC 95%: 98%, 100%)

La capacità di TSO Comprehensive (EU) di rilevare le alterazioni in centinaia di campioni FFPE è stata confrontata con i risultati ottenuti impiegando il metodo di riferimento indicato. TSO Comprehensive (EU) ha rilevato 41 fusioni ignorate dai metodi ortogonali. Il LoD per RNGS1 era 4-8x quello di TSO Comprehensive (EU); invitava all'uso di metodi aggiuntivi dalla sensibilità superiore, ma con una minore ampiezza delle fusioni. Utilizzando ddPCR sono state confermate altre 41 fusioni rilevate da TSO Comprehensive. I punteggi PPA e NPA per le fusioni rappresentano un composito di tre metodi ortogonali. Tre campioni sono stati identificati come positivi per le delezioni di MET esone 14 mediante qPCR ma non mediante TSO Comprehensive (EU), con un Ct medio superiore a 37, inferiore al livello del LoD di TSO Comprehensive (EU). NPA, concordanza percentuale negativa (Negative Percent Agreement); PPA, concordanza percentuale positiva (Positive Percent Agreement); RNGS, sequenziamento RNA di nuova generazione (RNA Next-Generation Sequencing).



Accuratezza analitica - TMB. La capacità di TSO Comprehensive (EU) di rilevare TMB in più di 100 campioni FFPE è stata confrontata con i risultati ottenuti impiegando il sequenziamento dell'intero esoma (WES). I risultati indicano una correlazione di Pearson pari a 0,94.

## Bibliografia

- Zehir A, Benayed R, Shah RH, et al. [Mutational landscape of metastatic cancer revealed from prospective clinical sequencing of 10,000 patients](#). *Nat Med*. 2017;23(6):703-713. doi:10.1038/nm.4333.
- Soumerai TE, Donoghue MTA, Bandlamudi C, et al. [Clinical Utility of Prospective Molecular Characterization in Advanced Endometrial Cancer](#). *Clin Cancer Res*. 2018;24(23):5939-5947. doi:10.1158/1078-0432.CCR-18-0412.
- Gutierrez ME, Choi K, Lanman RB, et al. [Genomic Profiling of Advanced Non-Small Cell Lung Cancer in Community Settings: Gaps and Opportunities](#). *Clin Lung Cancer*. 2017;18(6):651-659. doi:10.1016/j.clcc.2017.04.004.
- Singal G, Miller PG, Agarwala V, et al. [Association of Patient Characteristics and Tumor Genomics With Clinical Outcomes Among Patients With Non-Small Cell Lung Cancer Using a Clinicogenomic Database](#). *JAMA*. 2019;321(14):1391-1399. doi:10.1001/jama.2019.3241.
- Kato S, Kim KH, Lim HJ, et al. [Real-world data from a molecular tumor board demonstrates improved outcomes with a precision N-of-One strategy](#). *Nat Commun*. 2020;11:4965 (2020). doi.org/10.1038/s41467-020-18613-3.
- Rozenblum AB, Ilouze M, Dudnik E, et al. [Clinical Impact of Hybrid Capture-Based Next-Generation Sequencing on Changes in Treatment Decisions in Lung Cancer](#). *J Thorac Oncol*. 2017;12(2):258-268. doi:10.1016/j.jtho.2016.10.021.
- U.S. Food & Drug Administration. FDA approves pembrolizumab for adults and children with TMB-H solid tumors. Sito web della FDA. [fda.gov/drugs/drug-approvals-and-databases/fda-approves-pembrolizumab-adults-and-children-tmb-h-solid-tumors](https://www.fda.gov/drugs/drug-approvals-and-databases/fda-approves-pembrolizumab-adults-and-children-tmb-h-solid-tumors). Pubblicato il 17 giugno 2020. Consultato il 7 ottobre 2020.
- Tray N, Weber JS, Adams S. [Predictive Biomarkers for Checkpoint Immunotherapy: Current Status and Challenges for Clinical Application](#). *Cancer Immunol Res*. 2018;6(10):1122-1128. doi:10.1158/2326-6066.CIR-18-0214.
- Samstein RM, Lee CH, Shoushtari AN, et al. [Tumor mutational load predicts survival after immunotherapy across multiple cancer types](#). *Nat Genet*. 2019;51(2):202-206. doi.org/10.1038/s41588-018-0312-8.
- U.S. Food & Drug Administration. FDA Approves First-Line Immunotherapy for Patients with MSI-H/bMMR Metastatic Colorectal Cancer. Sito web della FDA. [fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-line-immunotherapy-patients-msi-h-dmrr-metastatic-colorectal-cancer](https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-line-immunotherapy-patients-msi-h-dmrr-metastatic-colorectal-cancer). Pubblicato il 29 giugno 2020. Consultato il 7 ottobre 2020.
- Illumina and Loxo Oncology to Partner on Developing Next-Generation Sequencing-Based Pan-Cancer Companion Diagnostics. [businesswire.com/news/home/20180410005649/en/](https://www.businesswire.com/news/home/20180410005649/en/). Pubblicato il 10 aprile 2018. Consultato il 22 febbraio 2021.
- As Lilly deal closes, Bayer secures full rights to Loxo's Vitrakvi. [biopharmadive.com/news/as-lilly-deal-closes-bayer-secures-full-rights-to-loxos-vitrakvi/548584/](https://www.biopharmadive.com/news/as-lilly-deal-closes-bayer-secures-full-rights-to-loxos-vitrakvi/548584/). Pubblicato il 15 febbraio 2019. Consultato il 22 febbraio 2021.
- Illumina. TruSight Oncology Comprehensive Package Insert. [support.illumina.com/sequencing/sequencing\\_kits/trusight-oncology-comprehensive.html](https://support.illumina.com/sequencing/sequencing_kits/trusight-oncology-comprehensive.html). Consultato il 25 maggio 2022.
- Roche, Illumina Partner on Next-Generation Sequencing IVD, CDx Development, Marketing. [genomeweb.com/businessnews/roche-illumina-partner-next-generation-sequencingivd-cdx-development-marketing#YWhVkhMKUk](https://www.genomeweb.com/businessnews/roche-illumina-partner-next-generation-sequencingivd-cdx-development-marketing#YWhVkhMKUk). Pubblicato il 13 gennaio 2020. Consultato il 22 febbraio 2021.
- Illumina Announces New and Expanded Oncology Partnerships with Bristol Myers Squibb, Kura Oncology, Myriad Genetics, and Merck to Advance Comprehensive Genomic Profiling. [businesswire.com/news/home/20210111005930/en/Illumina-Announces-New-and-Expanded-Oncology-Partnerships-with-Bristol-Myers-Squibb-Kura-Oncology-Myriad-Genetics-and-Merck-to-Advance-Comprehensive-Genomic-Profiling](https://www.businesswire.com/news/home/20210111005930/en/Illumina-Announces-New-and-Expanded-Oncology-Partnerships-with-Bristol-Myers-Squibb-Kura-Oncology-Myriad-Genetics-and-Merck-to-Advance-Comprehensive-Genomic-Profiling). Pubblicato l'11 gennaio 2021. Consultato il 22 febbraio 2021.
- Illumina Partners with Merck to Develop and Commercialize Companion Diagnostic and Research Tests for Use in Identifying Specific Cancer Mutations. [prnewswire.com/news-releases/illumina-partners-with-merck-to-develop-and-commercialize-companion-diagnostic-and-research-tests-for-use-in-identifying-specific-cancer-mutations-301369838.html](https://www.prnewswire.com/news-releases/illumina-partners-with-merck-to-develop-and-commercialize-companion-diagnostic-and-research-tests-for-use-in-identifying-specific-cancer-mutations-301369838.html). Pubblicato il 7 settembre 2021. Consultato il 14 ottobre 2021.
- Illumina. Illumina and Kartos Therapeutics Announce New Oncology Partnership to Develop an NGS-Based TP53 Companion Diagnostic. [illumina.com/company/news-center/press-releases/2021/12b6e4a6-3f52-407e-8200-8fa72712a980.html](https://www.illumina.com/company/news-center/press-releases/2021/12b6e4a6-3f52-407e-8200-8fa72712a980.html). Pubblicato nel 2021. Consultato il 9 febbraio 2024.
- Mayo Clinic Laboratories. EGFR - Specimen: EGFR Gene, Mutation Analysis, 29 Mutation Panel, Tumor. Sito web di Mayo Clinic Laboratories. [mayocliniclabs.com/test-catalog/Specimen/35404](https://www.mayocliniclabs.com/test-catalog/Specimen/35404). Consultato il 9 febbraio 2021.
- ARUP Laboratories. EGFR Mutation Detection by PyroSequencing. Sito web di ARUP Laboratories. [ltd.aruplab.com/Tests/Pub/2002440](https://www.ltd.aruplab.com/Tests/Pub/2002440). Consultato il 9 febbraio 2021.
- Abbott. Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit. [molecular.abbott/sal/en-us/staticAssets/ALK-US-CE-Clinical-PI\\_R3\\_mw001\\_3060.pdf](https://www.molecular.abbott/sal/en-us/staticAssets/ALK-US-CE-Clinical-PI_R3_mw001_3060.pdf). Consultato il 9 febbraio 2021.
- NeoGenomics Laboratories. MET Exon 14 Deletion Analysis | NeoGenomics Laboratories. Sito web di NeoGenomics Laboratories. [neogenomics.com/test-menu/met-exon-14-deletion-analysis](https://www.neogenomics.com/test-menu/met-exon-14-deletion-analysis). Consultato il 9 febbraio 2021.

22. Geisinger Medical Laboratories. Specimen collection and processing instructions for BRAF MUTATION ANALYSIS. Sito web di Geisinger Medical Laboratories. [geisingermedicallabs.com/catalog/details.cfm](https://geisingermedicallabs.com/catalog/details.cfm). Consultato il 9 febbraio 2021.
23. Geisinger Medical Laboratories. Specimen collection and processing instructions for KRAS MUTATION ANALYSIS. Sito web di Geisinger Medical Laboratories. [geisingermedicallabs.com/catalog/details.cfm](https://geisingermedicallabs.com/catalog/details.cfm). Consultato il 9 febbraio 2021.
24. Analisi fornita per gentile concessione di Velsera sulla base della Knowledge Base di TSO Comprehensive (EU). Aggiornato a marzo 2023.
25. Illumina. TruSight Oncology UMI Reagents. Sito web di Illumina. <https://www.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/datasheets/trusight-oncology-umi-reagents-datasheet-1000000050425.pdf>. Consultato il 9 febbraio 2021.
26. Illumina. Strumento NextSeq 550Dx. Disponibile all'indirizzo <https://science-docs.illumina.com/documents/Instruments/nextseq-550dx-instrument-spec-sheet-1000000062591/nextseq-550dx-instrument-spec-sheet-1000000062591.pdf>. Consultato il 9 febbraio 2021.
27. Velsera. Genomic Knowledge Base for Clinical Next-Generation Knowledge. Sito web di Velsera. [pieriandx.com/genomic-knowledge-base](https://pieriandx.com/genomic-knowledge-base). Consultato il 2 ottobre 2023.

## Dichiarazione d'uso previsto

TruSight Oncology Comprehensive (EU) è un test diagnostico *in vitro* che utilizza il sequenziamento mirato di nuova generazione per rilevare le varianti in 517 geni utilizzando acidi nucleici estratti da campioni di tessuto tumorale fissati in formalina e inclusi in paraffina (FFPE, Formalin-Fixed, Paraffin Embedded) di pazienti affetti da neoplasie maligne solide per mezzo dello strumento Illumina® NextSeq™ 550Dx instrument. Il test può essere utilizzato per rilevare varianti di singolo nucleotide, varianti di multipli nucleotidi, inserzioni, delezioni e amplificazioni geniche dal DNA e fusioni geniche e varianti di splicing dall'RNA. Il test calcola anche un punteggio per il carico mutazionale del tumore (TMB) e per lo stato di instabilità microsatellitare (MSI).

Il test è stato ideato come diagnostica di accompagnamento per identificare i pazienti affetti da cancro per il trattamento con la terapia mirata elencata nella **Tabella 9**, in conformità con l'etichettatura del prodotto terapeutico approvato. Inoltre, il test vuole fornire informazioni sul profilo del tumore che gli operatori sanitari qualificati possono utilizzare in conformità alle linee guida professionali e non è conclusivo né prescrittivo per l'uso previsto dall'etichetta di qualsiasi prodotto terapeutico specifico.

Tabella 9: indicazioni per la diagnostica di accompagnamento

Tipo di tumore	Biomarcatori	Terapia mirata
Tumori solidi	Fusioni geniche <i>NTRK1, NTRK2, NTRK3</i>	VITRAKVI (larotrectinib)



Numero verde 1.800.809.4566 (U.S.A.) | Tel. +1.858.202.4566  
[techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com) | [www.illumina.com](http://www.illumina.com)

© 2024 Illumina, Inc. Tutti i diritti riservati. Tutti i marchi di fabbrica sono di proprietà di Illumina, Inc. o dei rispettivi proprietari. Per informazioni specifiche sui marchi di fabbrica, visitare la pagina web [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).  
 M-EMEA-00069 ITA v5.0