

VeriSeq™ NIPT Solution v2

Un test de secvențiere
a întregului genom, accesibil,
complet

- Perspectivă cuprinzătoare asupra cromozomilor fetali datorită unei game de teste extinse, validate într-un studiu clinic privind acuratețea care a inclus > 2300 de probe
- Performanță fiabilă a testului¹ cu rezultate exacte și rapide și rate de eșec scăzute
- Soluție DIV simplă și adaptabilă, care poate analiza 24, 48 sau 96 de probe într-un ciclu de rulare



Introducere

Testarea prenatală neinvazivă (NIPT) efectuată cu secvențiere de generația următoare (NGS) furnizează rezultate de screening fiabile pentru aneuploidii cromozomiale fetale încă de la 10 săptămâni de gestație – dintr-un singur tub de sânge matern^{2,3}. VeriSeq NIPT Solution v2 se bazează pe puternica tehnologie NGS de la Illumina care integrează secvențierea întregului genom (WGS) în testele NIPT, extinzând astfel gama opțiunilor de teste pentru a include aneuploidii frecvente (cromozomii 21, 18 și 13), aneuploidii autozomale rare (RRA), aneuploidii ale cromozomilor sexuali (SCA) și duplicări și deleții parțiale ≥ 7 Mb pentru toți autozomii.

Combinând o gamă largă de testare cu rezultate exacte și cu rate de eșec scăzute, VeriSeq NIPT Solution v2 oferă un screening cuprinzător al cromozomilor fetalii, permițând decizii de gestionare a sarcinii informate și în timp util¹. Având în vedere că furnizează reactivi, instrumente, software, instalare și instruire, VeriSeq NIPT Solution v2 este o soluție automată și fiabilă pentru realizarea NIPT pe plan intern (Figura 1 și Tabelul 1).

Perspectivă completă asupra cromozomilor fetalii

Multe soluții pentru efectuarea NIPT în cadrul laboratorului se concentrează asupra screeningului pentru trisomiile din cromozomii 21, 18 și 13, dar aceste afecțiuni reprezintă numai o porțiune din anomalii care pot apărea. Aceste teste nu vor depista duplicările și delețiile parțiale ≥ 7 Mb care pot fi asociate cu anomalii fetale și cu întârzierea dezvoltării și care au o rată de screening pozitiv de 0,12% cu NIPT⁴. Aceste teste nu vor detecta nici sarcinile pentru care rezultatul screeningului este pozitiv pentru RAA, care poate fi asociat cu rezultate adverse, inclusiv, printre altele, pierderea sarcinii, restricția de creștere intrauterină (IUGR), disomia uniparentală (UPD), travaliu prematur spontan și anomalii fetale.⁵

Tabelul 1: VeriSeq NIPT Solution v2, pe scurt

Parametru	Descriere
Metoda	Secvențierea întregului genom
Pregătirea bibliotecii	Fără PCR
Chimie	Secvențiere la ambele capete
Nr. de probe	24, 48 sau 96 per lot
Timp până la raport	~ 26 de ore
Nr. de tehnicieni	1
Specimen	7-10 ml dintr-un singur tub de sânge matern
Analiza oferită	Starea aneuploidiei pentru toți autozomii și cromozomii sexuali; duplicări și deleții parțiale ≥ 7 Mb pentru toți autozomii

Performanță fiabilă a testului

Având în vedere acuratețea rezultatelor, timpul de răspuns și ratele de eșec, VeriSeq NIPT Solution v2 dă dovadă de o performanță excelentă.

Rezultate exacte

VeriSeq NIPT Solution v2 este validat pentru a stabili acuratețea și fiabilitatea clinică. A fost efectuat un studiu de validare cu probe de la sarcini afectate care au fost eligibile pentru testare dacă au fost disponibile rezultate clinice și au fost îndeplinite criteriile de includere a probelor. Cohorta a inclus vârste gestaționale de minimum 10 săptămâni, probe cu fracții fetale scăzute și sarcini gemelare. Studiul a cercetat >2300 de probe materne cu rezultate cunoscute pentru trisomia 21, trisomia 18, trisomia 13, RAA, SCA și duplicări și deleții parțiale ≥ 7 Mb pentru toți autozomii, utilizând VeriSeq NIPT Solution v2 și a comparat rezultatele cu date clinice de referință reale. Rezultatele au demonstrat o sensibilitate și o specificitate ridicate pentru trisomii frecvente, RAA, duplicări și deleții parțiale ≥ 7 Mb pentru toți autozomii, o concordanță ridicată a clasificării sexului fătului cu rezultatul clinic și o rată scăzută de eșec al probelor la prima testare de 1,2% (Tabelul 2 și Tabelul 3)¹.



Figura 1: Flux de lucru NIPT DIV complet – VeriSeq NIPT Solution v2 furnizează tot ce este necesar pentru NIPT utilizând NGS, inclusiv reactivi pentru extracția ADN-ului, pregătirea bibliotecii și secvențiere; instrumentele pentru a automatiza pregătirea bibliotecii și secvențierea cu software-ul Workflow Manager; un server local pentru securizarea stocării datelor și analiza datelor; precum și un software de analiză a datelor capabil să genereze un raport care furnizează rezultate calitative.

Tabelul 2: Performanța clinică a VeriSeq NIPT Solution v2¹

	Trisomia 21 ^c	Trisomia 18	Trisomia 13	RAA ^d	Duplicări și deleții parțiale ≥7 Mb	Orice anomalie ^e
Sensibilitate ^a	> 99,9% (130/130)	> 99,9% (41/41)	> 99,9% (26/26)	96,4% (27/28)	74,1% (20/27)	95,5% (318/333)
Îl 95% bilateral ^b	97,1%, 100%	91,4%, 100%	87,1%, 100%	82,3%, 99,4%	55,3%, 86,8%	92,7%, 97,3%
Specificitate	99,90% (1982/1984)	99,90% (1995/1997)	99,90% (2000/2002)	99,80% (2001/2005)	99,80% (2000/2004)	99,34% (1954/1967)
Îl 95% bilateral ^b	99,63%, 99,97%	99,64%, 99,97%	99,64%, 99,97%	99,49%, 99,92%	99,49%, 99,92%	98,87%, 99,61%

a. Performanța de bază a screeningului este raportată pentru T21, T18 și T13 și exclude 16 probe cu mozaicuri cunoscute și 49 de probe afectate de anomalii numai pentru screeningul la nivel de genom; performanța screeningului la nivel de genom este raportată pentru RAA și duplicări și deleții parțiale

b. Îl pe baza metodei bazate pe scorul lui Wilson

c. Șapte sarcini gemelare detectate corect drept T21 nu sunt raportate în tabel

d. RAA exclude cromozomii 21, 18 și 13

e. Orice anomalie include probe din screeninguri de bază și la nivel de genom pentru SCA

Tabelul 3: Concordanța rezultatelor clasificării sexului fătului cu testul VeriSeq NIPT Solution v2 cu referința clinică¹

Rezultatele testului VeriSeq NIPT Solution v2	Rezultatul fizic al nou-născutului		Rezultate citogenetice					
	Feminin	Masculin	XX	XY	XO	XXX	XXY	XYX
Concordant cu procentajul	100%	100%	100%	100%	90,5%	100%	100%	91,7%

Rezultate rapide

VeriSeq NIPT Solution v2 oferă un flux de lucru rapid în trei pași pentru NIPT, care generează rezultate exacte în doar puțin mai mult de o zi (Tabelul 4). Urmând fluxul de lucru simplu și automat, un tehnician poate analiza 24-96 de probe în <8 ore cu timp de lucru minim. Secvențierea direcționată și metodele bazate pe matrice tind să aibă protocoale de laborator mai îndelungate, care necesită mai mult timp de lucru.

Tabelul 4: VeriSeq NIPT este gata în doar puțin mai mult de o zi

Pas	Timp de lucru	Timp total
Pregătirea probelor și pregătirea bibliotecii	~ 2 ore	~ 8 ore
Secvențiere	~ 15 minute.	~ 14 ore
Analiza datelor și generarea raportului	N/A	~ 4 ore
Timp total	~ 2,25 ore	~ 26 de ore

Timpii efectivi depind de practicile de laborator individuale și pot varia;
N/A = nu se aplică.

Rate de eșec al testului scăzute

Eșecurile testelor, în care nu se poate lua nicio decizie de disomie sau de aneuploidie, sunt un factor important în fiabilitatea și utilitatea clinică a NIPT. Ratele de eșec al testului NIPT variază considerabil pe baza testului utilizat. Testele care utilizează o abordare direcționată sau o metodă polimorfică simplă prezintă rate mai mari de eșec la prima testare decât NGS⁶. VeriSeq NIPT Solution v2 utilizează WGS pentru a furniza date ample despre toți cromozomii, fără a avea impact asupra acurateții și fără a crește ratele de eșec sau de rezultate fals pozitive. În studiul clinic de validare, rata de eșec la prima testare a fost de 1,2%.¹ În practica din cadrul laboratorului, va fi disponibilă suficientă plasmă din recoltarea de sânge inițială pentru a repeta fluxul de lucru VeriSeq NIPT, dacă este necesar.⁷ S-a observat, printr-un studiu clinic de validare, că rata noastră de eșec finală, la o a doua recoltare de sânge, a fost de 0,4%⁷.

Soluție DIV simplă și adaptabilă

Testul VeriSeq NIPT Solution v2 integrat furnizează tot ce este necesar pentru efectuarea analizei. Fluxul de lucru automat se adaptează cu ușurință pentru a analiza 24, 48 sau 96 de probe într-un ciclu de rulare, pentru a permite eficiență și flexibilitate în gestionarea volumelor de probe. Laboratorul poate alege să ruleze screeningul de bază sau la nivel de genom pentru fiecare probă în parte.

Flux de lucru automat

Testul VeriSeq NIPT complet automatizat furnizează un flux de lucru simplu care reduce la minimum timpul de lucru al tehnicianului și potențialul pentru erori. Protocolul necesită 7-10 ml de sânge integral periferic matern recoltat în tubul de recoltare Streck (BCT) recomandat. Kiturile optimizate de pregătire a probelor pentru VeriSeq NIPT conțin reactivi și etichete pentru pregătirea bibliotecilor de secvențiere din ADN liber circulant (cfDNA). Izolarea plasmei, extracția ADN-ului acelar și pregătirea bibliotecii fără PCR, inclusiv crearea plăcii de cuantificare, cuantificarea bibliotecii și combinarea bibliotecilor, sunt automate pe VeriSeq NIPT Microlab STAR, care este un sistem al Hamilton Microlab STAR configurat în mod personalizat special pentru utilizarea în fluxul de lucru VeriSeq NIPT. VeriSeq NIPT Workflow Manager, ușor de utilizat, controlează toate aspectele pregătirii probelor, inclusiv urmărirea probelor.

Secvențiere

O probă de sânge matern conține fragmente de ADN liber circulant de diferite lungimi; citirile mai lungi sunt îmbogățite pentru ADN matern în timp ce citirile mai scurte sunt îmbogățite pentru ADN fetal (Figura 2)⁹. VeriSeq NIPT Solution v2 identifică rapid și eficient lungimile tuturor fragmentelor de ADN liber circulant dintr-o singură probă și aplică mai multă pondere ADN-ului acelar mai scurt în algoritmul de analiză, utilizând secvențierea la ambele capete efectuată pe sistemul Illumina NextSeq™ 550Dx, care combină puterea NGS⁹ cu randament ridicat cu accesibilitatea unui sistem compact (Tabelul 5).

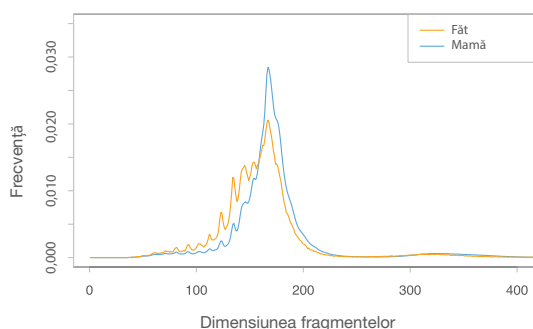


Figura 2: Comparație a dimensiunilor fragmentelor de ADN liber circulant matern și fetal – Secvențierea la ambele capete diferențiază fragmentele de ADN liber circulant pe baza dimensiunii. Fragmentele mai lungi sunt îmbogățite pentru ADN matern, în timp ce fragmentele mai scurte sunt îmbogățite pentru ADN fetal.

Tabelul 5: Cerințe privind performanța instrumentului NDG

Parametru	Specificație
Lungime citire	2 × 36 bp
Tip de fișier de secvențiere	Fișier .BCL
Rezultatul secvențierii	~ 400M citiri
Timp de rulare	~ 14 ore
Multiplexare	24 sau 48 de probe într-un ciclu de rulare

Analiză la fața locului

Analiza datelor este efectuată pe un server local VeriSeq v2 cu IVD VeriSeq NIPT Assay Software v2. Serverul procesează automat datele de secvențiere. Mai multe loturi de probe pot fi plasate în așteptare pentru analiză pe un singur server. Nu este necesar ca datele să fie trimise în afara laboratorului pentru analiză, economisind astfel timp și protejând identitatea probelor.

VeriSeq NIPT Assay Software v2

VeriSeq NIPT Assay Software v2 filtrează citirile și le aliniază cu un genom de referință. Un algoritm avansat stabilește densitatea citirii pentru fiecare cromozom (compartiment) și ajută la detectarea și la diferențierea aneuploidiei și a duplicărilor și delețiilor parțiale. De asemenea, software-ul generează și raportează o estimare a fracției fetale pentru fiecare probă. Datele privind fracția fetală sunt combinate cu acoperirea și alte intrări statistice generate în timpul secvențierii pentru a evalua starea aneuploidiei.

Pentru a obține rate de eșec al testului scăzute, VeriSeq NIPT Assay Software v2 include parametrul de notare a calității probelor numit test individualizat al încrederii privind aneuploidia fetală (iFACT). iFACT indică dacă testul a generat o acoperire de secvențiere suficientă, având în vedere estimarea fracției fetale pentru fiecare probă, pentru a permite o decizie de aneuploidie sau de duplicare și deleție parțială, chiar și pentru probe cu fracție fetală scăzută.¹⁰ Această valoare-limită dinamică îi permite VeriSeq NIPT Assay Software v2 să raporteze cu privire la probele cu fracție fetală scăzută, având ca rezultat un nivel scăzut de eșecuri ale testului.¹

Generarea raportului

După analiza datelor, VeriSeq NIPT Assay Software generează un rezultat „Aneuploidie detectată” sau „Nicio aneuploidie detectată” pentru cromozomii testați din fiecare probă. Dacă se detectează o deleție sau o duplicare parțială, în raport sunt afișate coordonatele exacte. Rezultatul informațiilor este un fișier „.tab” care poate fi integrat cu un sistem LIMS existent. Datele pot fi utilizate pentru a crea un raport clinic personalizat.

Punere în aplicare sprijinită complet

Pentru o integrare fără probleme în laborator, VeriSeq NIPT Solution v2 include o instalare completă a sistemului de către un inginer de service pe teren din cadrul Illumina, precum și instruire practică. Oameni de știință experți din cadrul Illumina ghidează personalul pas cu pas prin etapele de extracție a probelor, de pregătire a bibliotecii, de secvențiere și de analiză (Tabelul 6). Când laboratoarele sunt funcționale, echipa de Asistență tehnică din cadrul Illumina furnizează asistență continuă.

Tabelul 6: Instruirea cu privire la VeriSeq NIPT Solution v2

Subiect	Detalii
Introducere cu privire la VeriSeq NIPT Solution v2	Seminar cu prezentarea generală a fluxului de lucru și a analizei <ul style="list-style-type: none"> Ghid privind echipamentul auxiliar Ghid privind consumabilele Protocolul de recoltare a sângelui Protocolul de izolare a plasmiei
Instruire privind utilizarea instrumentului	Instruire la fața locului <ul style="list-style-type: none"> Necesită un instrument instalat
Inspecție la fața locului	Confirmare la fața locului <ul style="list-style-type: none"> Instalarea echipamentului auxiliar Reactivii necesari Conectivitatea componentelor sistemului
Instruire la fața locului	Test efectuat de un om de știință din cadrul Illumina <ul style="list-style-type: none"> Probe de plasmă artificială pretestate cu caracteristici de performanță cunoscute (furnizate de Illumina) Ghidare pe parcursul fluxului de lucru de testare de la izolarea plasmiei până la utilizarea instrumentului și analiza datelor Instruire privind analiza datelor
Testarea competențelor la fața locului	Test efectuat de client <ul style="list-style-type: none"> Probe de plasmă artificială pretestate cu caracteristici de performanță cunoscute (furnizate de Illumina)

Rezumat

VeriSeq NIPT Solution v2 revoluționează accesibilitatea, fiabilitatea și puterea NIPT. Noile laboratoare pot valorifica NGS pentru rezultate ale NIPT rapide, fiabile și exacte, cu rate de eșec scăzute.

Află mai multe

VeriSeq NIPT Solution v2, www.illumina.com/VeriSeqNIPT

Informații pentru comandă

Produs	Nr. de catalog
VeriSeq NIPT Sample Prep Kit (24 de probe)	20025895
VeriSeq NIPT Sample Prep Kit (48 de probe)	15066801
VeriSeq NIPT Sample Prep Kit (96 de probe)	15066802
VeriSeq NIPT Assay Software v2	20047024
Server local VeriSeq v2	20028403 20047000
BCT Streck pentru ADN aceluilar (CE)	15073345
Instrument NextSeq 550Dx	20005715
Set de reactivi cu debit mare NextSeq 550Dx v2.5, 75 de cicluri	20028870

Declarație privind utilizarea preconizată

VeriSeq NIPT Solution v2 este un test de diagnosticare *in vitro* destinat utilizării ca test de screening pentru detectarea anomaliilor genetice ale fătului la nivel de genom din probele de sânge integral periferic matern la femeile însărcinate aflate la cel puțin 10 săptămâni de gestație. VeriSeq NIPT Solution v2 utilizează secvențierea întregului genom pentru a detecta duplicările și delețiile parțiale pentru toți autozomii și starea aneuploidiei pentru toți cromozomii. Testul oferă o opțiune de a solicita raportarea aneuploidiei cromozomului sexual (SCA). Acest produs nu trebuie utilizat ca bază unică de diagnosticare sau pentru alte decizii de gestionare a sarcinii.

Referințe

1. Pertile MD, Flowers N, Vavrek D, et al. [Performance of a Paired-End Sequencing-Based Noninvasive Prenatal Screening Test in the Detection of Genome-Wide Fetal Chromosomal Anomalies](#). *Clin Chem*. 2021;doi: 10.1093/clinchem/hvab067.
2. Bianchi DW, Platt LD, Goldberg JD, Abuhamad AZ, Sehnert AJ, Rava RP. [Genome-wide fetal aneuploidy detection by maternal plasma DNA sequencing](#). *Obstet Gynecol*. 2012;119(5):890-901.
3. Bianchi DW, Parker RL, Wentworth J, et al. [CARE Study Group: DNA sequencing versus standard prenatal aneuploidy screening](#). *N Engl J Med*. 2014;370:799-808.
4. Pertile MD. [Genome-wide cell-free DBA-based prenatal testing for rare autosomal trisomies and subchromosomal abnormalities](#). Page-Christiaens L, Klein HG. *Noninvasive Prenatal Testing (NIPT): Applied Genomics in Prenatal Screening and Diagnosis*. London, United Kingdom: Academic Press Elsevier; 2018:97-123.
5. Pertile MD, Halks-Miller M, Flowers N, et al. [Rare autosomal trisomies, revealed by maternal plasma DNA sequencing, suggest increased risk of feto-placental disease](#). *Sci Transl Med*. 2017;9(405).
6. Yaron Y. [The implications of non-invasive prenatal testing failures: a review of an under-discussed phenomenon](#). *Prenat Diagn*. 2016;36:391-396.
7. Eiben B, Borth H, Kutur N, et al. [Clinical experience with noninvasive prenatal testing in Germany: analysis of over 500 high-risk cases for trisomy 21, 18, 13, and monosomy X](#). *Obstet Gynecol Rep*. 2021;5:1-7. doi: 10.15761/OGR.1000157.
8. Lo YM, Chan KC, Sun H, et al. [Maternal plasma DNA sequencing reveals the genome-wide genetic and mutational profile of the fetus](#). *Sci Transl Med*. 2010;2(61):61ra91.
9. Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP, et al. [Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry](#). *Nature*. 2008;456(7218):53-59.
10. Cirigliano V, Ordoñez E, Rueda L, Syngelaki A, Nicolaides KH. [Performance evaluation of the NeoBona test, a new paired-end massive parallel shotgun sequencing approach for cfDNA based aneuploidy screening](#). *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2016; doi: 10.1002/uog.17386.



Tel.: 1.800.809.4566 gratuit (SUA) | +1.858.202.4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2022 Illumina, Inc. Toate drepturile rezervate. Toate mărcile comerciale sunt proprietatea Illumina, Inc. sau a proprietarilor lor respectivi. Pentru informații specifice privind mărcile comerciale, consultați www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-01319 RON v1.0