

Solution VeriSeq™ DPNI v2

La révolution du DPNI; la solution VeriSeq DPNI v2 est un test de séquençage du génome entier, exhaustif et accessible qui produit des résultats précis pour 96 échantillons ou moins en environ 26 heures.

Points forts

- Vue la plus complète du génome fœtal**
 La solution de DPNI pour le DIV en laboratoire offre l'analyse la plus complète et validée par une étude clinique précise de plus de 2000 échantillons de 2 000 échantillons.
- Performance supérieure du test¹**
 Précision inégalée, résultats les plus rapides, faible taux d'échec
- Solution de DIV simple et adaptable**
 Solution facile à mettre en œuvre qui traite 24, 48 ou 96 échantillons par analyse

Introduction

Un dépistage prénatal non invasif (DPNI) fondé sur le séquençage nouvelle génération (NGS, Next-Generation Sequencing) procure des résultats fiables pour le dépistage de l'aneuploïdie chromosomique fœtale à aussi tôt que 10 semaines de gestation à partir d'un simple tube de sang maternel^{2,3}. La solution VeriSeq DPNI v2 tire parti de la puissante technologie NGS d'Illumina afin de permettre l'utilisation d'une méthode de séquençage du génome entier pour le DPNI, ce qui permet d'élargir les options du menu de test pour inclure les aneuploïdies courantes (chromosomes 21, 18 et 13), toutes les aneuploïdies autosomiques rares (RAA), les aneuploïdies des chromosomes sexuels (SCA) ainsi que les délétions partielles et les duplications, désignées comme les variations du nombre de copies (CNV, Copy Number Variation), supérieures ou égales à 7 Mb. En combinant un menu de test élargi, des résultats précis et un faible taux d'échec, la solution VeriSeq DPNI offre le dépistage du génome fœtal le plus complet, permettant ainsi une prise de décision éclairée et rapide en matière de grossesse^{4,5}.

La solution VeriSeq DPNI v2 comporte des innovations relatives au flux de travail, aux instruments et au logiciel qui rendent accessible le DPNI fondé sur le NGS à tous les laboratoires effectuant le dépistage clinique prénatal d'aneuploïdies. La solution VeriSeq DPNI automatisée et fiable comprend les réactifs, les instruments, le logiciel, l'installation et la formation nécessaires pour effectuer les DPNI sur place (Figure 1 et Tableau 1).

Tableau 1 : Aperçu de la solution VeriSeq DPNI v2

Paramètre	Description
Méthode	Séquençage du génome entier
Préparation des librairies	Sans PCR
Chimie	Séquençage à lecture appariée
Nbre d'échantillons	24, 48 ou 96 par lot
Durée du traitement	Env. 26 heures
Nbre de techniciens	1
Échantillon	De 7 à 10 ml de sang maternel provenant d'un même tube
Analyse offerte	État d'aneuploïdie de tous les autosomes et chromosomes sexuels Certaines variations sous-chromosomiques du nombre de copies supérieures ou égales à 7 Mb



Figure 1 : Flux de travail de DIV exhaustif pour le DPNI : La solution VeriSeq DPNI v2 fournit tout ce dont vous avez besoin pour le DPNI fondé sur le NGS, notamment les réactifs pour l'extraction de l'ADN, la préparation de librairies et le séquençage; les instruments pour la préparation automatisée des librairies et le séquençage à l'aide d'un gestionnaire de flux de travail; un serveur sur site pour analyser et stocker les données en toute sécurité; et un logiciel d'analyse de données capable de produire des résultats cliniques.

Tableau 2 : Performance clinique de la solution VeriSeq DPNI v2^a

	Trisomie 21	Trisomie 18	Trisomie 13	RAA ^d	CNV ≥ 7 Mb	Toute anomalie ^e
Sensibilité^b	> 99,9 % (130/130)	> 99,9 % (41/41)	> 99,9 % (26/26)	96,4 % (27/28)	74,1 % (20/27)	95,5 % (318/333)
IC bilatéral à 95 %^c	97,1 %, 100 %	91,4 %, 100 %	87,1 %, 100 %	82,3 %, 99,4 %	55,3 %, 86,8 %	92,7 %, 97,3 %
Spécificité	99,90 % (1982/1984)	99,90 % (1995/1997)	99,90 % (2000/2002)	99,80 % (2001/2005)	99,80 % (2000/2004)	99,34 % (1954/1967)
IC bilatéral à 95 %^c	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. Sept grossesses gémellaires rapportées correctement dont les résultats pour la T21 ne sont pas affichés dans le tableau
- b. Résultats du dépistage de base rapportés pour la T21, la T18 et la T13, et excluant 16 échantillons touchés par un mosaïcisme connu ainsi que 49 échantillons touchés par des anomalies évaluées lors du dépistage du génome entier seulement; résultats du dépistage du génome entier rapportés pour la RAA et les CNV
- c. Intervalle de confiance (IC) fondé sur la méthode Wilson
- d. RAA excluant les chromosomes 21, 18 et 13
- e. Toute anomalie incluant les échantillons du dépistage de base et du génome entier pour la SCA

Tableau 3 : Concordance entre les résultats de la classification du sexe du fœtus de la solution VeriSeq DPNI v2 et les résultats de l'évaluation standard de la référence clinique

Résultats de la solution VeriSeq DPNI v2	Résultats de l'examen physique du nouveau-né ^a		Résultats cytogénétiques					
	Féminin	Masculin	XX	XY	XO	XXX	XXY	XXYY
Pourcentage de concordance	100 %	100 %	100 %	100 %	90,5 %	100 %	100 %	91,7 %

- a. Aucun résultat cytogénétique

Vue exhaustive du génome fœtal

Plusieurs solutions de DPNI en laboratoire mettent l'accent sur les trisomies des chromosomes 21, 18 et 13, alors que ces chromosomes ne représentent qu'une partie du génome. Ces tests ne détectent pas les CNV supérieures ou égales à 7 Mb qui peuvent se produire à un taux d'incidence de 0,10 % et qui ont été associées aux anomalies fœtales et au retard de développement. Ils ne détectent pas non plus les grossesses qui obtiennent un résultat positif au dépistage des RAA, lesquelles peuvent être associées à des événements indésirables, notamment un avortement spontané, un retard de croissance intra-utérin (RCIU), une disomie uniparentale (DUP), un travail prématuré et une anomalie fœtale⁶. Étant donné que les RAA se produisent à un taux combiné de 0,34 %⁶, en comparaison d'un taux de 0,30 % pour la trisomie 21⁷, il est possible que le test de DPNI utilisé seul ne détecte pas certaines anomalies importantes.

Performance supérieure du test

Compte tenu de la précision des résultats, du temps de réponse et des taux d'échec, la solution VeriSeq DPNI v2 offre une excellente performance.

Précision inégalée

Une analyse approfondie a été effectuée pour déterminer la fiabilité et la précision clinique de la solution VeriSeq DPNI v2. Les échantillons des femmes enceintes ciblées étaient admissibles au test lorsque les résultats cliniques étaient accessibles et répondaient aux critères d'inclusion. La cohorte comprenait des sujets dont l'âge gestationnel était d'environ 11 semaines, des échantillons à faible fraction fœtale et des grossesses gémellaires. L'étude s'appuie sur l'analyse à l'aide de la solution VeriSeq DPNI de plus de 2 300 échantillons de sang maternel, pour lesquels les résultats de trisomie 21, de trisomie 18, de trisomie 13, de toutes les trisomies autosomiques rares, de CNV

supérieures ou égales à 7 Mb et de SCA étaient inconnus. Les résultats ont été comparés aux données de référence clinique. Les résultats ont affiché une sensibilité et une spécificité exceptionnellement élevées pour les aneuploïdies ciblées et les CNV supérieures ou égales à 7 Mb (Tableau 2 et Tableau 3), et un faible taux général d'échec des échantillons de 1,2 %⁸.

Résultats les plus rapides

La solution VeriSeq DPNI v2 offre un flux de travail en trois étapes pour le DPNI qui produit des résultats précis en un peu plus d'une journée (Tableau 4). En suivant le flux de travail simple et automatisé, un technicien peut analyser de 24 à 96 échantillons en moins de 8 heures avec une courte durée de manipulation. Les protocoles de laboratoire des méthodes de séquençage ciblé et des méthodes fondées sur les puces à ADN ont tendance à être plus longs et nécessitent davantage de manipulation.

Tableau 4 : Analyse complète en environ une journée avec la solution VeriSeq DPNI

Étape	Durée de manipulation	Durée totale
Préparation des échantillons (isolation du plasma, extraction de l'ADN, préparation des librairies)	Env. 2 heures	Env. 8 heures
Séquençage (chargement des librairies et configuration de l'analyse)	Env. 15 min	Env. 14 heures
Analyse des données et production de rapports^a	S. O.	Env. 4 heures
Durée totale	Env. 2,25 heures	Env. 26 heures

- a. La durée réelle dépend des procédés particuliers des laboratoires et elle peut varier d'un site à un autre. S. O. : sans objet.

Faibles taux d'échec du test

Les échecs, c'est-à-dire lorsqu'il est impossible de définir une disomie ou une aneuploidie, constituent un important facteur d'évaluation de la fiabilité et de l'utilité clinique du DPNI. Les taux d'échec du DPNI varient considérablement en fonction du test utilisé. Dans les études expérimentales cliniques comme dans celles de validation, les tests qui s'appuient sur une approche ciblée présentent des taux d'échec plus élevés que ceux qui séquençent le génome entier⁹. La solution VeriSeq DPNI v2 utilise le séquençage du génome entier pour créer suffisamment de données pour le génome diploïde entier sans compromettre la précision ou accroître les taux d'échec et de résultats faux positifs. Dans l'étude de performance clinique, environ 99 % des échantillons obtiennent un résultat à la première analyse⁸. Dans la pratique, en laboratoire, la quantité de matériel provenant du prélèvement sanguin initial pourrait être suffisante pour répéter le flux de travail de la solution VeriSeq DPNI, au besoin.

Solution de DIV simple et adaptable

La solution VeriSeq DPNI v2 intégrée fournit tout ce dont vous avez besoin pour effectuer le test. Le flux de travail automatisé s'adapte facilement pour traiter 24, 48 ou 96 échantillons par analyse, et ainsi permettre une gestion efficace et souple du volume d'échantillons.

Préparation automatisée des librairies

Le procédé entièrement automatisé de la solution VeriSeq DPNI offre un flux de travail simple qui réduit le temps requis d'un technicien et le risque d'erreurs potentielles. Le protocole commence par le prélèvement de 7 à 10 ml de sang maternel périphérique dans le tube de prélèvement sanguin de Streck. Les trousse de préparation d'échantillons VeriSeq DPNI optimisées comprennent des réactifs et des consommables pour la préparation des librairies de séquençage à partir de l'ADN acellulaire. L'isolation de plasma, l'extraction d'ADN acellulaire et la préparation de librairies sans PCR, y compris la création d'une plaque de quantification, la quantification des librairies et le regroupement des librairies, sont automatisées dans le système VeriSeq DPNI Microlab STAR de la société Hamilton. Ce système est configuré sur mesure pour être utilisé expressément avec le flux de travail de la solution VeriSeq DPNI. Le gestionnaire de flux de travail convivial VeriSeq DPNI contrôle toutes les étapes de la préparation des échantillons, y compris le suivi des échantillons.

Séquençage

La solution VeriSeq DPNI v2 est fondée sur la chimie éprouvée de séquençage par synthèse (SBS) d'Illumina, la chimie qui génère plus de 90 % des données de séquençage mondiales¹⁰.

Efficacité améliorée avec le séquençage à lecture appariée

Un échantillon de sang maternel contient différentes longueurs de fragments d'ADN acellulaire, dont les plus longs ont tendance à appartenir à la mère, tandis que les plus courts suggèrent une meilleure corrélation avec le fœtus (Figure 2)¹¹. Le séquençage à lecture appariée, qui produit deux fois plus de données que le séquençage à lecture unique pour une durée et un effort équivalents, permet à la solution VeriSeq DPNI v2 d'identifier rapidement et efficacement la longueur de tous les fragments d'ADN acellulaire à l'intérieur d'un seul échantillon. L'algorithme du logiciel de test VeriSeq DPNI utilise ces données pour axer l'analyse sur les fragments les plus courts afin d'accroître le signal provenant de l'ADN acellulaire du fœtus.

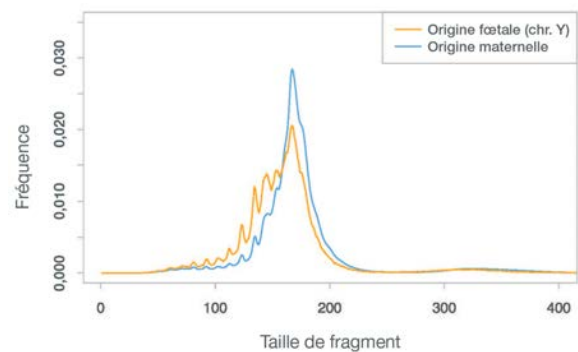


Figure 2 : Comparaison de la taille des fragments maternels et fœtaux de l'ADN acellulaire : Le séquençage à lecture appariée peut faire la différence entre les fragments d'ADN acellulaire d'après leur taille. Les fragments plus longs ont tendance à être d'origine maternelle et les plus courts, d'origine fœtale.

La puissance du diagnostic dans un séquenceur de bureau

Le séquençage à l'aide de la solution VeriSeq DPNI v2 est exécuté sur le système NextSeq™ 550Dx, une plateforme conforme à la réglementation par la FDA et portant le marquage CE-IVD qui offre la puissance du NGS à débit élevé au coût abordable d'un système de table (Tableau 5). Le système NextSeq 550Dx offre un flux de travail de type chargement-exécution qui nécessite environ 30 minutes de manipulation. L'interface utilisateur intuitive permet aux utilisateurs de réaliser des applications de séquençage en réduisant au minimum le temps de formation des utilisateurs et de configuration de l'instrument.

Tableau 5 : Exigences relatives à la performance de l'instrument de NGS

Paramètre	Caractéristique
Longueur de séquences	2 × 36 pb
Type de fichier de séquençage	Fichier .BCL
Sortie de séquençage	400 000 000 de lectures
Durée de l'analyse	Env. 14 heures
Multiplexage	24 ou 48 échantillons par analyse

Analyse sur site

L'analyse des données est réalisée sur un serveur sur site VeriSeq v2 dédié avec le logiciel de test VeriSeq DPNI v2 qui porte le marquage IVD. Le serveur traite automatiquement les données de séquençage. Il est possible de mettre en attente de multiples lots d'échantillons pour qu'ils soient analysés sur un seul serveur. Inutile d'envoyer des données à l'extérieur aux fins d'analyse; gagnez du temps et protégez l'identité des échantillons.

Logiciel de test VeriSeq DPNI

Le logiciel de test VeriSeq DPNI filtre et aligne les lectures en fonction d'un génome de référence. Un algorithme avancé compte les lectures par chromosome. Les résultats reflètent la couverture normalisée du chromosome analysé, ou de la région sous-chromosomique, et permettent de détecter et de différencier les aneuploïdies et les CNV. Le logiciel donne aussi une estimation de la fraction fœtale pour chacun des échantillons et il crée un rapport à ce sujet. Les données sur la fraction fœtale sont combinées avec la couverture et d'autres données statistiques produites pendant le séquençage pour évaluer l'état d'aneuploïdie.

Afin d'assurer de faibles taux d'échec aux tests, le logiciel de test VeriSeq DPNI tient compte de l'indicateur de la qualité de l'échantillon au test de fiabilité individuel d'aneuploïdie fœtale (iFACT). D'après l'estimation de la fraction fœtale de chacun des échantillons, l'iFACT indique si l'instrument effectue une couverture de séquençage suffisante et affiche une qualité des données suffisante pour permettre la définition d'aneuploïdie et des CNV, même dans les échantillons à faible fraction fœtale¹²⁻¹⁴. Ce seuil dynamique permet au logiciel de test VeriSeq DPNI de créer un rapport sur les échantillons à faible fraction fœtale et d'afficher un faible taux d'échec aux tests¹⁴⁻¹⁶.

Production de rapports

Après l'analyse de données, le logiciel de test VeriSeq DPNI définit les chromosomes testés dans chacun des échantillons comme « Aneuploidy Detected » (aneuploïdie détectée) ou « No Aneuploidy Detected » (aucune aneuploïdie détectée). Lorsqu'un CNV est détecté, les coordonnées exactes du génome s'affichent dans le rapport de sortie pour l'échantillon. L'information est transposée dans un fichier .CSV qui peut être intégré à un LIMS existant. Les données peuvent être utilisées pour créer un rapport clinique adapté aux besoins du laboratoire.

Prise en charge complète de la mise en œuvre

La solution VeriSeq DPNI comprend l'installation complète du système par un technicien d'assistance sur le terrain expérimenté d'Illumina et une formation pratique pour qu'elle soit intégrée en douceur dans votre laboratoire. Les scientifiques avertis d'Illumina aident le personnel du laboratoire, étape par étape, tout au long de l'extraction des échantillons, de la préparation des librairies, du séquençage et de l'analyse (Tableau 6). Lorsque les laboratoires sont prêts et fonctionnent, l'équipe d'assistance technique d'Illumina fournit une assistance en continu.

Tableau 6 : Formation pour la solution VeriSeq DPNI v2

Thème	Détails
Introduction à la solution VeriSeq DPNI v2	Aperçu du séminaire sur le flux de travail et l'analyse <ul style="list-style-type: none"> Guide sur l'équipement auxiliaire Guide sur les consommables Protocole sur le prélèvement de sang Protocole sur l'isolation du plasma
Formation sur le fonctionnement de l'instrument	Formation sur les lieux <ul style="list-style-type: none"> Installation de l'instrument requise
Inspection du site	Confirmation sur les lieux <ul style="list-style-type: none"> Installation de l'équipement auxiliaire Réactifs requis Connectivité des composants du système
Formation sur les lieux	Test effectué par un scientifique d'Illumina <ul style="list-style-type: none"> Échantillons de plasma déjà testés dont les caractéristiques de performance sont connues (fournis par Illumina) Révision du flux de travail du test, de l'isolation du plasma à l'utilisation de l'instrument, en passant par l'analyse de données Formation sur l'analyse de données
Test de compétence sur les lieux	Test effectué par le client <ul style="list-style-type: none"> Échantillons de plasma déjà testés dont les caractéristiques de performance sont connues (fournis par Illumina)

Résumé

La solution VeriSeq DPNI v2 révolutionne l'accessibilité, la fiabilité et la puissance du DPNI. Désormais, tous les laboratoires peuvent tirer parti du NGS pour obtenir rapidement des résultats de DPNI fiables et d'une grande précision, avec un faible taux d'échec.

En savoir plus

Pour en savoir plus sur la solution VeriSeq DPNI, visitez le site www.illumina.com/VeriSeqNIPT.

Renseignements relatifs aux commandes

Produit	N° de référence
Trousse de préparation d'échantillons VeriSeq DPNI (24 échantillons)	20025895
Trousse de préparation d'échantillons VeriSeq DPNI (48 échantillons)	15066801
Trousse de préparation d'échantillons VeriSeq DPNI (96 échantillons)	15066802
Serveur sur site VeriSeq v2	20028403
Mise en route de la solution VeriSeq DPNI	15076162
Tube de prélèvement sanguin Cell-Free DNA de Streck (CE)	15073345
Instrument NextSeq 550Dx	20005715

Déclaration relative à l'utilisation prévue

La solution VeriSeq DPNI est un test diagnostique *in vitro* conçu pour être utilisé comme un test de dépistage pour détecter les anomalies génétiques fœtales à partir d'échantillons de sang entier périphérique maternel de femmes enceintes d'au moins 10 semaines. Elle s'appuie sur le séquençage du génome entier aux fins de la détection des CNV pour tous les autosomes et de l'état d'aneuploïdie pour tous les chromosomes. Le test peut générer un rapport sur l'aneuploïdie touchant les chromosomes sexuels (SCA). Ce produit ne doit pas être utilisé comme l'unique fondement d'un diagnostic ou d'une autre décision en matière de grossesse.

Références

1. Données internes. Illumina, Inc. 2019.
2. Bianchi, D. W., Platt, L. D., Goldberg, J. D., Abuhamad, A. Z., Sehnert, A. J., Rava, R. P. « [Genome-wide fetal aneuploidy detection by maternal plasma DNA sequencing](#) ». *Obstet Gynecol.* 2012; 119(5):890-901.
3. Bianchi, D. W., Parker, R. L., Wentworth, J., et al. « [CARE Study Group: DNA sequencing versus standard prenatal aneuploidy screening](#) ». *N Engl J Med.* 2014;370:799-808.
4. Calcul des données internes. Illumina, Inc. 2019.
5. ACOG Committee on Practice Bulletins—Obstetrics, Committee on Genetics, and the Society for Maternal-Fetal Medicine. [Practice Bulletin No. 163: Screening for Fetal Aneuploidy](#). *Obstet Gynecol.* 2016;127(5):e123-37. doi: 10.1097/AOG.0000000000001406.
6. Pertile, M. D., 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).
7. Galjaard, R. J., Henneman, L., Macville, M., et al. « [Implementing NIPT as part of a national prenatal screening program: The Dutch TRIDENT studies](#) ». Oral abstract: International Conference on Prenatal Diagnosis and Therapy; July 2018; Antwerp, Belgium.
8. Illumina. Notice d'accompagnement de la solution DPNI VeriSeq v2. 2019.
9. Illumina. Don't settle for failure. mkt.illumina.com/rs/600-XEX-927/images/dont-settle-for-failure.pdf. Consulté le 15 mars 2017.
10. Calcul des données internes. Illumina, Inc. 2017.
11. Lo, Y. M., Chan, K. C., 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.
12. Duenwald, S., Chen, G., Barbacioru, C., et al. « [Development of a Novel Paired-End Sequencing-Based Noninvasive Prenatal Test](#) ». Affiche présentée lors de la 36e conférence annuelle sur la grossesse de la Society for Maternal-Fetal Medicine, du 1er au 6 février 2016, Atlanta, Géorgie.
13. Cirigliano, V., Ordoñez, E., Rueda, L., Syngelaki, A., Nicolaidis, K. H. « [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. [Epub avant impression].
14. Cirigliano, V., Ordonez, E., Rueda, L., et al. « [Performance evaluation and clinical application of a new paired end MPSS approach for cfDNA based prenatal aneuploidy screening](#) ». Présentation effectuée auprès de l'International Society for Prenatal Diagnosis, du 10 au 13 juillet 2016, Berlin, Allemagne.
15. Wang, E., Batey, A., Struble, C., Musci, T., Song, K. et Oliphant, A. « [Gestational age and maternal weight effects on fetal cell-free DNA in maternal plasma](#) ». *Prenat Diagn.* 2013; 33:662-666.
16. Pergament, E., Cuckle, H., Zimmermann, B., et al. « [Single-nucleotide polymorphism-based noninvasive prenatal screening in a high-risk and low-risk cohort](#) ». *Obstet Gynecol.* 2014; 124(2 Pt 1):210-218.

Illumina, Inc. • 1 800 809 4566 (numéro sans frais aux États-Unis) • tél. +1 858 202 4566 • techsupport@illumina.com • www.illumina.com

© 2020 Illumina, Inc. Tous droits réservés. Toutes les marques de commerce sont la propriété d'Illumina, Inc. ou de leurs détenteurs respectifs. Pour obtenir des renseignements sur les marques de commerce, consultez la page www.illumina.com/company/legal.html. Document#100000033860 v01 FRAQB7743



Destiné au diagnostic *in vitro*. Communiquez avec un représentant d'Illumina pour vérifier la disponibilité dans votre région.

100000033860 v01 FRA | 5
English Source: 100000032015 v03