

VeriSeq™ NIPT Solution v2

A nem invazív prenatalis vizsgálatokat forradalmasító VeriSeq NIPT Solution v2 az egész munkafolyamatot magában foglaló, megfizethető, teljes genomra kiterjedő szekvenálási vizsgálat, amely pontos eredményeket készít akár 96 mintából, körülbelül 26 óra alatt.

Legfontosabb jellemzők

- A magzati genom legátfogóbb értékelése**
 Több mint 2000 mintával végzett klinikai pontossági tanulmányban igazolt, legnagyobb genetikai lefedettségű in vitro diagnosztikai NIPT-megoldás
- Kiemelkedő teljesítmény¹**
 Példátlan pontosság, leggyorsabb eredmények, alacsony sikertelenségi arány
- Egyszerű, skálázható IVD-megoldás**
 A könnyen elvégezhető eljárással futtatásonként 24, 48 vagy 96 minta vizsgálható

A VeriSeq NIPT Solution v2 innovatív munkafolyamata, készüléke és szoftvere az NGS-alapú NIPT-t hozzáférhetővé teszi minden, klinikai prenatalis aneuploiditási szűrést végző laboratórium részére. A reagenseket, készülékeket és szoftvert tartalmazó, a telepítést és a képzést magában foglaló VeriSeq NIPT rendszer automatizált, megbízható megoldás az NIPT intézményen belüli elvégzésére (1. ábra és 1. táblázat).

1. táblázat: A VeriSeq NIPT Solution v2 áttekintése

Paraméter	Leírás
Módszer	Teljes genom szekvenálása
Könyvtár-előkészítés	PCR nélkül
Kémiai alapelv	Páros végű szekvenálás
Minták száma	Tételenként 24, 48 vagy 96
Eredményekig eltelő idő	~ 26 óra
Technikusok száma	1
Minta	Egy cső (7–10 ml) anyai vér
Elvégezhető elemzés	Minden autoszóma és nemi kromoszóma aneuploiditási állapota Bizonyos, ≥ 7 Mb méretű szubkromoszomális példányszámváltozások

Bevezetés

Az új generációs szekvenálással (NGS) végzett nem invazív prenatalis vizsgálat (NIPT) a magzati kromoszóma-aneuploiditásokról megbízható szűrési eredményt biztosít már a terhesség 10. hetétől – egy kémcsőnyi anyai vérből.^{2,3} A VeriSeq NIPT Solution v2 a nagy teljesítményű Illumina NGS technológiával a teljesgenom-szekvenálási (WGS) megközelítést alkalmazza NIPT céljára, ezzel a vizsgált eltérések körét kiterjesztve a gyakori aneuploiditások (21-es, 18-as és 13-as kromoszóma), a ritka kromoszóma-aneuploiditások (RAA), a nemi kromoszómák aneuploiditása (SCA) és a ≥ 7 Mb méretű részleges deléciók és duplikációk, más néven példányszám-változások (CNV) kimutatására alkalmas. A vizsgálati lehetőségek széles köre, a pontos eredmények és az alacsony sikertelenségi arány kombinációjával a VeriSeq NIPT Solution a magzati genom legátfogóbb szűrését biztosítja, amely lehetővé teszi megalapozott, időben történő terhességi döntések meghozatalát.^{4,5}



1. ábra: Teljes IVD NIPT munkamenet – A VeriSeq NIPT Solution v2 tartalmaz mindent az NGS segítségével végzett NIPT-hez, többek között DNS-extrakcióhoz, a könyvtár-előkészítéshez és a szekvenáláshoz szükséges reagenseket, az automatizált könyvtár-előkészítéshez és a szekvenáláshoz való eszközöket munkafolyamat-kezelő szoftverrel, egy helyi kiszolgálót a biztonságos adattároláshoz és -elemzéshez, valamint a klinikai eredmények létrehozására alkalmas szoftvert.

A magzati genom részletes áttekintése

Számos laboratóriumon belül elvégezhető NIPT megoldás csak a 21-es, 18-as és 13-as kromoszóma triszómiáját mutatja ki, pedig ezek csak a genom egy részét képviselik. Ezekkel a vizsgálatokkal nem mutathatók ki a ≥ 7 Mb méretű CNV-k, amelyek 0,10%-os incidenciával léphetnek fel, és összefüggésben állnak magzati rendellenességekkel és fejlődésbeli elmaradással. E vizsgálatokkal ugyancsak elmarad az RAA-k kimutatása, amelyek nemkívánatos eredményekkel, többek között vetéléssel, intrauterin növekedési visszamaradással (IUGR), uniparentális diszómiával (UPD), koraszüléssel és magzati rendellenességekkel járhatnak.⁶ Az RAA-k összesített gyakorisága 0,34%,⁶ míg a 21-es triszómia kockázata 0,30%,⁷ így az alapszintű NIPT-szűréssel elmaradhat jelentős rendellenességek kimutatása.

Kimagasló vizsgálati teljesítmény

Az eredmények pontossága, az eredményig eltelt idő és a sikertelenség aránya alapján a VeriSeq NIPT Solution v2 kiemelkedő teljesítményt nyújt.

Példátlan pontosság

A VeriSeq NIPT Solution v2 klinikai pontosságát és megbízhatóságát átfogó vizsgálatokban határozták meg. A vizsgálatba bevonták azokat az érintett terhességből származó mintát, amelyeknél a klinikai eredmények rendelkezésre álltak, és a minta megfelelt a bevonási feltételeknek. A vizsgált csoport körülbelül 11 hetes terhességekből állt, és tartalmazta az alacsony magzati frakciójú és az ikerterhességeket is. A vizsgálatban > 2300 anyai minta szűrése történt, ahol ismert volt az NIPT Solution v2 segítségével meghatározott 21-es, 18-as és 13-as triszómia, az összes ritka autoszomális triszómia, a ≥ 7 Mb méretű CNV-k és az SCA-k eredménye; az eredményeket a klinikai adatokkal hasonlították össze. Az eredmények rendkívül magas szenzitivitást és specificitást mutattak a vizsgált aneuploiditások és a ≥ 7 Mb méretű CNV-k tekintetében (2. táblázat és 3. táblázat), valamint összesen alacsony, 1,2%-os sikertelenségi arányt.⁸

Gyors eredmények

A VeriSeq NIPT Solution v2 gyors, háromlépéses munkafolyamata alig több mint 1 nap alatt pontos eredményt ad (4. táblázat). Az egyszerű, automatizált munkafolyamat követésével egy technikus 24–96 minta elemzését tudja elvégezni < 8 óra alatt, csekély munkaidőigénnyel. A célzott szekvenálási és a DNS-chip alapú módszerekhez általában hosszabb idejű laboratóriumi protokollok és több munkaidő szükséges.

2. táblázat: A VeriSeq NIPT Solution v2 klinikai teljesítménye^a

	21-es triszómia	18-as triszómia	13-as triszómia	RAA ^d	CNV ≥ 7 Mb	Bármilyen rendellenesség ^e
Szenzitivitás^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)
2 oldalas 95%-os konfidencia-intervallum^c	97,1%, 100%	91,4%, 100%	87,1%, 100%	82,3%, 99,4%	55,3%, 86,8%	92,7%, 97,3%
Specifititás	99,90% (1982/1984)	99,90% (1995/1997)	99,90 (2000/2002)	99,80% (2001/2005)	99,80% (2000/2004)	99,34% (1954/1967)
2 oldalas 95%-os konfidencia-intervallum^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. A táblázatban nem szerepel hét ikerterhesség, amelyben helyesen történt 21-es triszómia azonosítás
- b. Az alapszintű szűrés a T21, T18 és T13 eltéréseket tartalmazza, és a teljesítményéhez figyelembe vett minták közül ki van zárva 16, ismert mozaicizmusos eset és további 49 minta, amelyekben csak a teljes genomra kiterjedő szűrés által kimutatott rendellenesség állt fenn; az RAA-k és a CNV-k esetén a teljes genomra kiterjedő szűrés eredménye szerepel.
- c. A Wilson-pontszám módszerrel megállapított konfidencia-intervallum
- d. Az RAA nem tartalmazza a 21-es, 18-as és 13-as kromoszóma eltéréseit
- e. Bármilyen rendellenesség tartalmazza az SCA alapszintű és a teljes genomra kiterjedő szűrését

3. táblázat: A VeriSeq NIPT Solution v2 magzati nemre vonatkozó eredményének egyezése a klinikai eredményhez viszonyítva

VeriSeq NIPT Solution v2 eredmények	Az újszülött fizikális vizsgálatának eredménye ^a		Citogenetikai eredmények					
	Nő	Férfi	XX	XY	XO	XXX	XXY	XXY
Százalékos egyezési arány	100%	100%	100%	100%	90,5%	100%	100%	91,7%

- a. Nincs citogenetikai eredmény

4. táblázat: A VeriSeq NIPT elvégzésének ideje körülbelül 1 nap

Lépés	Munkaidő	Teljes idő
Minta-előkészítés (plazma elválasztása, DNS kivonása, könyvtár-előkészítés)	~ 2 óra	~ 8 óra
Szekvenálás (könyvtár betöltése és futtatás beállítása)	~ 15 perc	~ 14 óra
Adatok elemzése és jelentés elkészítése ^a	NA	~ 4 óra
Teljes idő	~ 2,25 óra	~ 26 óra

a. A tényleges idő függ a laboratóriumi eljárásoktól, és eltérő lehet az egyes helyeken. NA: nincs

Alacsony sikertelenségi arány

Az NIPT megbízhatósága és klinikai hasznossága szempontjából fontos tényező a sikertelen vizsgálatok aránya, amikor nem lehet eldönteni, hogy diszómia vagy aneuploiditás áll-e fenn. Az NIPT-vizsgálat sikertelenségének aránya jelentősen különbözik a használt vizsgálati módszertől függően. Mind a hitelesítési, mind a klinikai tanulmányok eredményei szerint a célzott megközelítést alkalmazó vizsgálatoknál nagyobb a sikertelenség aránya, mint a teljes genom szekvenálásán alapuló vizsgálatok esetében.⁹

A VeriSeq NIPT Solution v2 teljesgenom-szekvenálás segítségével nagy mennyiségű adatot szolgáltat a teljes diploid genomról a pontosság rontása, illetve a sikertelenség vagy az álpozitív eredmények gyakoriságának növelése nélkül. A klinikai teljesítményt értékelő vizsgálatban a minták körülbelül 99%-a adott eredményt az első futtatás alkalmával.⁹ A laboratóriumi gyakorlatban az eredeti vérvételből elegendő anyag maradhat szükség esetén a VeriSeq NIPT-munkafolyamat megismétléséhez.

Egyszerű, skálázható IVD megoldás

Az integrált VeriSeq NIPT Solution v2 tartalmaz mindent, ami szükséges a vizsgálat elvégzéséhez. Az automatizált munkafolyamat könnyen skálázható futtatásonként 24, 48 vagy 96 minta elemzéséhez, lehetővé téve a mintamennyiség hatékony és rugalmas kezelését.

Automatikus könyvtár-előkészítés

A teljesen automatizált VeriSeq NIPT eljárás egyszerű munkafolyamat, amely minimálisra csökkenti a technikusok munkaidejét és a hibák lehetőségét. A protokoll 7–10 ml anyai teljes vérről kezdődik, amelyet a mellékelt Streck vérvételi csőbe (BCT) kell levenni. Az optimalizált VeriSeq NIPT minta-előkészítési készletek tartalmazzák a cfDNS-ből a szekvenálási könyvtárak előkészítéséhez szükséges reagenseket és fogyóeszközöket. A plazma elválasztása, a cfDNS kivonása és a PCR-mentes könyvtár-előkészítés, beleértve a mennyiségi meghatározási lemez elkészítését, a könyvtárak mennyiségi meghatározását és a könyvtárak összekeverését, automatizálva történik a VeriSeq NIPT Microlab STAR, a Hamilton Microlab STAR rendszerek kifejezetten az NIPT VeriSeq munkafolyamatra beállított változata segítségével. A felhasználóbarát VeriSeq NIPT Workflow Manager vezérli a minta-előkészítés minden lépését, beleértve a minta követését.

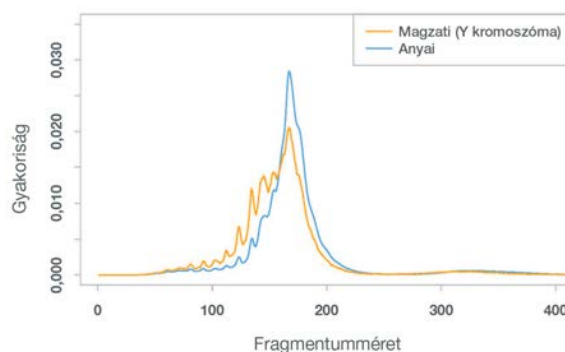
In vitro diagnosztikai használatra. Az Ön területén való elérhetőséggel kapcsolatban forduljon az Illumina képviselőjéhez.

Szekvenálás

A VeriSeq NIPT Solution v2 a bizonyított minőségű Illumina szintézis általi szekvenálási (SBS) kémiai módszerrel történik; ezzel a kémiai módszerrel keletkezik világszerte a szekvenálási adatok 90%-a.¹⁰

Jobb hatékonyság páros végű szekvenálással

Az anyai vér különböző hosszúságú cfDNS-eket tartalmaz; a hosszabb darabok inkább anyai eredetűek, a rövidebbek pedig inkább a magzatiól származnak (2. ábra).¹¹ Az egyszerű leolvasású szekvenáláshoz képest ugyanakkora idő- és munkaigény esetén kétszer nagyobb mennyiségű adatot szolgáltató páros végű DNS-szekvenálással a VeriSeq NIPT Solution v2 gyorsan és hatékonyan meghatározza a mintában lévő összes cfDNS hosszúságát. A VeriSeq NIPT Assay Software vizsgálati szoftver algoritmus a ezen adatok alapján a rövidebb fragmentumok elemzésére összpontosít a magzati cfDNS jelének erősítéséhez.



2. ábra: Az anyai és a magzati cfDNS méretének összehasonlítása – Páros végű szekvenálással elkülöníthetők a cfDNS-fragmentumok a méret alapján. A hosszabb fragmentumok általában anyai, a rövidebbek pedig inkább magzati eredetűek.

Nagy diagnosztikai teljesítmény egy asztali szekvenálóban

A VeriSeq NIPT Solution v2 során a szekvenálást az FDA által jóváhagyott, CE-IVD jelzéssel ellátott Illumina NextSeq™ 550Dx rendszer végzi, amely nagy teljesítményű NGS-t nyújt egy asztali rendszer megfizethetőségével (5. táblázat). A NextSeq 550Dx rendszer a körülbelül 30 perces munkaidőt igénylő munkafolyamat után nem igényel felhasználói beavatkozást. Az intuitív felhasználói felület lehetővé teszi a felhasználóknak a szekvenálási alkalmazások elvégzését, míg minimális képzést igényel, és a készülék beállítása rövid ideig tart.

5. táblázat: Az NGS-készülék teljesítménye

Paraméter	Műszaki adatok
Beolvasások hossza	2 × 36 bp
Szekvenálási fájl típusa	.BCL fájl
Szekvenálási kimeneti teljesítmény	400 000 beolvasás
Működési idő	~ 14 óra
Multiplexelés	Futtatásonként 24 vagy 48 minta

Helyi adatelemzés

Az adatok elemzése az erre kijelölt VeriSeq Onsite Server v2 számítógépen a VeriSeq NIPT Assay Software v2 szoftverrel történik. A kiszolgáló automatikusan elvégzi a szekvenálási adatok feldolgozását. Egy kiszolgálón való feldolgozásra több adattétel állítható sorba elemzésre. Nincs szükség az adatok más helyre történő elküldésére, ami időt takarít meg, és védi a minta személyes adatait.

VeriSeq NIPT Assay Software

A VeriSeq NIPT Assay Software a beolvasásokat szűri és a referenciagenomhoz illeszti. A kromoszómánkénti beolvasások számát egy speciális algoritmus kezeli. A vizsgált kromoszóma vagy kromoszóma-részterület normalizált lefedettségét tükröző pontszámok az aneuploiditás és a CNV-k kimutatásában segítenek. A szoftver minden mintánál kiszámítja és jelenti a magzati frakció értékét is. A magzati frakció, a lefedettség és más, a szekvenálás során gyűjtött statisztikai adatok alapján történik az aneuploiditási állapot meghatározása.

Az alacsony sikertelenségi arány biztosításához a VeriSeq NIPT Assay Software részét képező különálló magzati aneuploiditási megbízhatósági vizsgálat (iFACT) létrehoz egy mintaminőségi pontszámot. Az iFACT azt jelzi, hogy a készülék által létrehozott adatok szekvenálási lefedettsége és minősége az illető minta becsült magzati frakciója figyelembevételével megfelelő ahhoz, hogy lehetővé tegye az aneuploiditás vagy a CNV azonosításához, még alacsony magzati frakciójú minták esetén is.¹²⁻¹⁴ E dinamikus határérték segítségével a VeriSeq NIPT Assay Software eredményt tud adni alacsony magzati frakciójú minták esetén is, ami alacsony sikertelenségi arányt eredményez.¹⁴⁻¹⁶

Jelentés létrehozása

Az adatok elemzése után a VeriSeq NIPT Assay Software minden minta minden kromoszómája esetén az „aneuploiditás kimutatva” vagy a „nincs aneuploiditás kimutatva” eredményt adja. CNV kimutatása esetén a mintához tartozó jelentésben megjelennek az eltérés pontos genomialis koordinátái. A rendszer az adatokat .CSV-fájlként adja ki, amely integrálható a laboratóriumi adatkezelő rendszerbe. Az adatok alapján egyénre szabott klinikai jelentés hozható létre a laboratórium igényeinek megfelelően.

A megvalósítás teljes körű támogatása

A laboratórium zökkenőmentes felkészítéséhez a VeriSeq NIPT Solution v2 magában foglalja a képesített Illumina szervizműmök által végzett telepítést és a személyzet gyakorlati képzését. Ennek során az Illumina tudományos szakértője lépésről lépésre végigvezeti a személyzetet a minta kivonása, a könyvtár-előkészítés, a szekvenálás és az elemzés lépésein (6. táblázat). A terméket használó laboratóriumoknak az Illumina műszaki ügyfélszolgálat folyamatos támogatást biztosít.

6. táblázat: VeriSeq NIPT Solution v2 – képzés

Téma	Részletek
VeriSeq NIPT Solution v2 – bevezetés	A munkafolyamat és az elemzés elméleti áttekintése <ul style="list-style-type: none"> Kiegészítő berendezések Fogyóeszközök Vérvételi protokoll Plazmaelválasztási protokoll
A készülék használatára vonatkozó képzés	Képzés a használat helyén <ul style="list-style-type: none"> Telepített készülék szükséges
Helyszín megtekintése	Ellenőrzés a használat helyén <ul style="list-style-type: none"> Kiegészítő berendezések telepítése Szükséges reagensek A rendszer összetevőinek csatlakoztatása
Képzés a használat helyén	Az Illumina tudományos szakértője végzi a vizsgálatot <ul style="list-style-type: none"> Előzetesen megvizsgált, ismert teljesítményjellemzőkkel rendelkező plazmaminták (az Illumina szállítja) Végigvezetés a vizsgálati munkafolyamaton a plazma elválasztásától a készülék működtetéséig és az adatok elemzéséig Adatelemzési képzés
Helyszíni kompetencia-ellenőrzés	Az ügyfél munkatársa végzi a vizsgálatot <ul style="list-style-type: none"> Előzetesen megvizsgált, ismert teljesítményjellemzőkkel rendelkező plazmaminták (az Illumina szállítja)

Összefoglalás

A VeriSeq NIPT Solution v2 forradalmi változást hoz az NIPT hozzáférhetősége, megbízhatósága és teljesítménye terén. Most minden laboratórium ki tudja használni az NGS lehetőségeit a gyors, megbízható és igen pontos NIPT eredmények készítésére.

Tudjon meg többet

A VeriSeq NIPT Solution v2 termékről további tájékoztatás található a www.illumina.com/VeriSeqNIPT internetes helyen.

Rendelési információk

Termék	Cikkszám
VeriSeq NIPT Sample Prep Kit (24 minta)	20025895
VeriSeq NIPT Sample Prep Kit (48 minta)	15066801
VeriSeq NIPT Sample Prep Kit (96 minta)	15066802
VeriSeq Onsite Server v2	20028403
VeriSeq NIPT Solution szoftver aktiválása	15076162
Streack sejtmentes DNS BCT (CE)	15073345
NextSeq 550Dx készülék	20005715

Rendeltetés

A VeriSeq NIPT Solution v2 *in vitro* diagnosztikai vizsgálat, amely szűrővizsgálatként szolgál a genomszintű magzati genetikai rendellenességek felismerésére az anya perifériás teljes vérből, legkorábban a 10. gesztációs héten. A VeriSeq NIPT a teljes genom szekvenálásával az összes autoszómán előforduló CNV-k és az összes kromoszóma aneuploiditásának kimutatására szolgál. A vizsgálat lehetőséget nyújt a nemi kromoszómák aneuploiditásának (SCA) a meghatározására. A termék nem használható a diagnózis felállításának vagy az egyéb,

terhességgel kapcsolatos döntések meghozatalának egyedüli alapjaként.

Hivatkozások

1. A gyártó adatai. Illumina, Inc 2019.
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. A gyártó számításai. 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 MD, Halks-Miller M, Flowers N, et al. [Rare autosomal trisomies, revealed by maternal plasma DNA sequencing, suggest increased risk of fetoplacental disease](#). *Sci Transl Med.* 2017;9(405).
7. Galjaard RJ, Henneman L, Macville M, et al. Implementing NIPT as part of a national prenatal screening program: The Dutch TRIDENT studies. Szóbeli összefoglalás: International Conference on Prenatal Diagnosis and Therapy; July 2018; Antwerp, Belgium.
8. Illumina. VeriSeq NIPT Solution v2 terméktájékoztató. 2019.
9. Illumina. Don't settle for failure. [mkt.illumina.com/rs/600-XEX-927/images/dont-settle-for-failure.pdf](#). Letöltés: 2017. március 15., szerda
10. A gyártó számításai. Illumina, Inc 2017.
11. 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.
12. Duenwald S, Chen G, Barbacioru C, et al. Development of a Novel Paired-End Sequencing-Based Noninvasive Prenatal Test. Poszter bemutatása: Society for Maternal-Fetal Medicine 36th Annual Pregnancy Meeting; 2016. február 1–6; Atlanta, Georgia.
13. 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. [Előzetes elektronikus közlés].
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. Poszter bemutatása: International Society for Prenatal Diagnosis. 2016. július 10–13; Berlin, Germany.
15. Wang E, Batey A, Struble C, Musci T, Song K, 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 díjmentes (Amerikai Egyesült Államok) • +1.858.202.4566 tel. • techsupport@illumina.com • www.illumina.com

© 2019 Illumina, Inc. Minden jog fenntartva. Minden védjegy az Illumina, Inc., illetve az adott tulajdonosok tulajdonát képezi. Az egyes védjegy-információkat lásd: www.illumina.com/company/legal.html, dokumentumszám: 1000000119417 v00 HUN QB 7743

illumina[®]