

# VeriSeq™ NIPT Solution v2

Uçtan uca, erişilebilir bir tüm  
genom dizileme testi

- >2300 numunelik bir klinik doğruluk çalışmasında valide edilen geniş bir test menüsü ile fetal kromozomlara yönelik kapsamlı görünüm
- Yüksek düzeyde doğruluk,<sup>1</sup> hızlı sonuçlar ve düşük hata oranlarıyla güvenilir test performansı
- Çalıştırma başına 24, 48 veya 96 numuneyi analiz edebilen basit ve ölçeklenebilir IVD çözümü

illumina®

## Giriş

Yeni nesil sekanslama (NGS) kullanılarak gerçekleştirilen invaziv olmayan prenatal test (NIPT), tek tüp maternal kan ile henüz 10 hafta gibi gebeliğin erken dönemlerinde fetal kromozomal anöploidiler konusunda güvenilir tarama sonuçları sağlar.<sup>2,3</sup> VeriSeq NIPT Solution v2 güçlü Illumina NGS teknolojisi sayesinde NIPT konusunda tüm genom dizileme (WGS) yaklaşımını uygulamaya koyarak yaygın anöploidileri (21, 18 ve 13. kromozomlar), nadir otozomal anöploidileri (RAA'lar), belirli cinsiyet kromozomu anöploidilerini (SCA'lar) ve  $\geq 7$  Mb boyutundaki parsiyel duplikasyon ve delesyonları içeren genişletilmiş bir test menüsü yelpazesi sunmaktadır.

Geniş kapsamlı bir test menüsünü doğru sonuçlar ve düşük hata oranlarıyla bir arada sunan VeriSeq NIPT Solution v2, kapsamlı bir fetal kromozom taraması sağlayarak gebelik yönetimi kararlarının zamanında ve bilgiye dayalı olarak alınabilmesine olanak tanır.<sup>1</sup> Reaktif, cihaz, yazılım, kurulum ve eğitim olanakları sunan VeriSeq NIPT Solution v2, kurum içi NIPT konusunda güvenilir bir otomatik çözümdür (Şekil 1 ve Tablo 1).

## Fetal kromozomlara ilişkin tam görünüm

Pek çok laboratuvar içi NIPT çözümünde 21, 18 ve 13. kromozomlardaki trizomilerin taramasına odaklanılır ancak bu hastalıklar, meydana gelebilecek anomalilerin yalnızca bir kısmını temsil eder. Bu testlerde, fetal anomaliler ve gelişme geriliğiyle ilişkilendirilebilecek ve NIPT ile tarama pozitif oranı %0,12 olan  $\geq 7$  Mb boyutundaki parsiyel duplikasyon ve delesyonlar gözden kaçacaktır.<sup>4</sup> Bu testlerde diğerlerinin yanı sıra düşük, intrauterin gelişme geriliği (IUGR), uniparental dizomi (UPD), spontan erken doğum ve fetal anomali dahil olmak üzere advers sonuçlarla ilişkilendirilebilen RAA'lar için tarama sonucu pozitif olan gebelikler de gözden kaçacaktır.<sup>5</sup> RAA'lar için birleşik tarama pozitif oranı %0,34<sup>5</sup> iken trizomi 21 için %0,30'dur.<sup>6,7</sup>

Tablo 1: Tek bakışta VeriSeq NIPT Solution v2

Parametre	Açıklama
Yöntem	Tüm genom dizileme
Kitaplık hazırlama	PCR-free
Kimya	Çift sonlu sekanslama
Numune sayısı	Seri başına 24, 48 veya 96
Raporlamaya kadar geçen süre	~ 26 saat
Teknisyen sayısı	1
Numune	7-10 ml tek tüp maternal kan
Sunulan analiz	Tüm otozomların ve cinsiyet kromozomlarının anöploidi durumu; $\geq 7$ Mb parsiyel duplikasyon ve delesyonlar

## Güvenilir test performansı

Sonuç doğruluğu, yanıt verme süresi ve hata oranları temel alındığında VeriSeq NIPT Solution v2 mükemmel performans göstermektedir.

## Yüksek düzeyde doğruluk

VeriSeq NIPT Solution v2 klinik doğruluğu ve güvenilirliği belirlemek üzere valide edilmiştir. Etkilenen gebeliklerden elde edilen numuneler, klinik sonuçların mevcut olması ve numuneyi dahil etme ölçütlerini karşılaması koşuluyla test için uygun olmuştur. Kohort kapsamında gebelik süreleri en az 10 hafta olmuştur, düşük fetal fraksiyonlu numunelere ve ikiz gebeliklere yer verilmiştir. Çalışmada VeriSeq NIPT Solution v2 kullanılarak trizomi 21, trizomi 18, trizomi 13, RAA'lar, SCA'lar ve  $\geq 7$  Mb boyutundaki parsiyel duplikasyon ve delesyonlar açısından sonuçları bilinen > 2300 maternal numune taranmış ve sonuçlar klinik referans doğrular ile karşılaştırılmıştır. Sonuçlar; yaygın trizomiler, RAA'lar,  $\geq 7$  Mb boyutundaki parsiyel duplikasyon ve delesyonlar için yüksek düzeyde duyarlılık ve özgüllük sağlandığını, fetal cinsiyet sınıflandırmasının klinik sonuçla yüksek düzeyde uyumlu olduğunu ve ilk geçiş numune hata oranının %1,2 gibi düşük bir düzeyde olduğunu göstermiştir (Tablo 2 ve Tablo 3).<sup>1</sup>



Şekil 1: Tüm IVD NIPT iş akışı — VeriSeq NIPT Solution v2, NGS yardımıyla NIPT için gereken her şeyi sunar (örneğin DNA ekstraksiyonu, kitaplık hazırlama ve sekanslamaya yönelik reaktifler; iş akışı yöneticisi yazılımı ile sekanslama ve kitaplık hazırlamayı otomatikleştirmeye yönelik cihazlar; güvenli veri depolama ve analizi için yerinde sunucu; kalitatif sonuçlar sunan rapor oluşturabilen bir veri analizi yazılımı dahildir).

Tablo 2: VeriSeq NIPT Solution v2'nin klinik performansı<sup>1</sup>

	Trizomi 21 <sup>c</sup>	Trizomi 18	Trizomi 13	RAA <sup>d</sup>	≥7 Mb Parsiyel duplikasyonlar ve delesyonlar	Herhangi bir anomali <sup>e</sup>
Duyarlılık <sup>a</sup>	> %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 taraflı %95 CI <sup>b</sup>	%97,1, %100	%91,4, %100	%87,1, %100	%82,3, %99,4	%55,3, %86,8	%92,7, %97,3
Özgüllük	%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 taraflı %95 CI <sup>b</sup>	%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. T21, T18 ve T13 için temel tarama performansı raporlanmıştır ve bilinen mozaikleri içeren 16 numune ile yalnızca genom geneli tarama için anomalilerden etkilenen 49 numune hariç tutulmuştur; RAA ve parsiyel duplikasyon ve delesyonlar için genom geneli tarama performansı raporlanmıştır

b. Wilson skoru yöntemine göre CI

c. Yedi ikiz gebelik doğru raporlanmıştır, T21 tablodaki gösterilmemektedir

d. 21, 18 ve 13. kromozomlar RAA'dan hariç tutulmuştur

e. Herhangi bir anomali, temel ve genom geneli SCA taramalarına ait numuneleri içermektedir

Tablo 3: VeriSeq NIPT Solution v2'nin fetal cinsiyet sınıflandırması sonuçları için klinik referans ile uyumu<sup>1</sup>

VeriSeq NIPT Solution v2 sonuçları	Yenidoğan fizik muayene sonucu			Sitojenik sonuçlar				
	Kız	Erkek	XX	XY	XO	XXX	XXY	XXY
Yüzde uyumu	%100	%100	%100	%100	%90,5	%100	%100	%91,7

## Hızlı sonuçlar

VeriSeq NIPT Solution v2, neredeyse bir gün gibi bir sürede doğru sonuçlar üreten üç adımlık hızlı bir NIPT iş akışı sunar (Tablo 4). Bir teknisyen, basit ve otomatik iş akışını uygulayarak minimum düzeyde manuel işlem süresi ile < 8 saatte 24 ila 96 numuneyi analiz edebilir. Hedeflenen sekanslama ve dizi temelli yöntemler genellikle daha uzun süren laboratuvar protokollerine sahiptir ve daha uzun süreli manuel işlem gerektirir.

Tablo 4: VeriSeq NIPT yalnızca bir günü aşkın zamanda tamamlanır

Adım	Manuel işlem süresi	Toplam süre
Numune hazırlama ve kitaplık hazırlama	~ 2 saat	~ 8 saat
Sekanslama	~ 15 dak	~ 14 saat
Veri analizi ve rapor oluşturma	N/A	~ 4 saat
Toplam süre	~ 2,25 saat	~ 26 saat

Gerçek süreler münferit laboratuvar uygulamalarına bağlı olup değişiklik gösterebilir; N/A, geçerli değil

## Düşük test hatası oranları

Hiçbir dizomi ya da anöploidi aramasının yapılamadığı test hataları, NIPT'nin güvenilirliği ve klinik kullanışlılığı açısından önemli bir faktördür. NIPT test hatası oranları kullanılan teste göre önemli oranda farklılık gösterir. Hedeflenen bir yaklaşım ya da tek polimorfik yöntem kullanılan testlerde, NGS'ye kıyasla daha yüksek oranda birincil test hatası görülmektedir.<sup>8</sup> VeriSeq NIPT Solution v2, tüm genom dizileme sayesinde tüm kromozomlar genelinde doğruluğu etkilemeden veya başarısızlık ya da yalancı pozitif oranlarını artırmadan yüksek miktarda veri sağlar. Klinik validasyon çalışmasında ilk geçiş hata oranı %1,2 olmuştur.<sup>1</sup> Laboratuvar uygulamasında, gerekiyorsa VeriSeq NIPT iş akışını tekrarlamak için ilk kan alımından yeterli plazma elde edilecektir.<sup>9</sup> Tekrarın ardından birincil hata oranının aynı numunede %2'den %1,3'e düştüğü ortaya konmuştur.<sup>9</sup>

## Basit ve ölçeklenebilir IVD çözümü

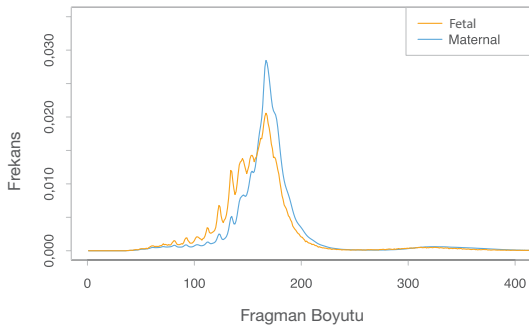
Entegre VeriSeq NIPT Solution v2 testi çalıştırmak için ihtiyaç duyduğunuz her şeyi sağlar. Otomatik iş akışı, numune hacimlerini yönetme konusunda etkinlik ve esneklik sağlamak üzere çalıştırma başına 24, 48 veya 96 numuneyi analiz etmek için kolayca ölçeklenir. Laboratuvar numuneye göre temel ya da genom geneli tarama çalıştırmayı seçebilir.

## Otomatik iş akışı

Tamamen otomatik VeriSeq NIPT testi, teknisyenin manuel işlem süresini ve hata potansiyelini en aza indiren basit bir iş akışı sağlar. Protokol için önerilen Streck Kan Toplama Tüpünde (BCT) 7-10 ml maternal periferik tam kan toplanması gerekir. Optimize edilmiş VeriSeq NIPT numune hazırlama kitleri, cfDNA'dan sekanslama kitaplıklarını hazırlamaya yönelik reaktifleri ve etiketleri içerir. Plazma izolasyonu, cfDNA ekstraksiyonu ve PCR-free kitaplık hazırlama (miktar tayini plakasını oluşturma, kitaplık miktar tayini ve kitaplık havuzlama dahil) özellikle VeriSeq NIPT iş akışında kullanılmak üzere özel olarak yapılandırılmış bir Hamilton Microlab STAR sistemi olan VeriSeq NIPT Microlab STAR'da otomatikleştirilmiştir. Kullanıcı dostu VeriSeq NIPT İş Akışı Yöneticisi numune hazırlığını, numune takibi dahil olmak üzere her yönden kontrol eder.

## Sekanslama

Maternal kan numunesi çeşitli uzunluklarda cfDNA fragmanları içerir; daha uzun olanlar maternal olma eğilimindeyken daha kısa olanlar fetüs kaynaklı olma eğilimindedir (Şekil 2).<sup>10</sup> VeriSeq NIPT Solution v2 tek bir numunedeki tüm cfDNA fragmanlarının uzunluklarını hızlı ve etkili bir şekilde tanımlar ve tezgah üstü sistemlerin sağladığı uygun maliyet avantajıyla yüksek veri hacimli NGS<sup>11</sup> gücünü sunan Illumina NextSeq™ 550Dx Sisteminde gerçekleştirilen çift sonlu sekanslama ile daha kısa cfDNA analizine odaklanır (Tablo 5).



Şekil 2: Maternal ve fetal cfDNA fragmanlarına ilişkin boyut karşılaştırması — Çift sonlu sekanslama, cfDNA fragmanlarını boyuta göre birbirinden ayırt eder. Daha uzun olan fragmanlar maternal kaynaklı olma eğilimindeyken daha kısa fragmanlar fetal olma eğilimindedir.

Tablo 5: NGS cihazı performans gereklilikleri

Parametre	Spesifikasyon
Okuma uzunluğu	2 × 36 bp
Sekanslama dosyası türü	.BCL dosyası
Sekanslama çıktısı	400 M okuma
Çalıştırma süresi	~ 14 saat
Çoğullama	Çalıştırma başına 24 veya 48 numune

## Yerinde analiz

Veri analizi, IVD işaretli VeriSeq NIPT Assay Software v2 içeren ayrı bir VeriSeq v2 Yerinde Sunucu üzerinde gerçekleştirilir. Sunucu sekanslama verilerini otomatik olarak işler. Tek sunucuda birden fazla numune serisi analiz için kuyruğa alınabilir. Analiz için verilerin gönderilmesi gerekmez ve bu sayede zaman tasarrufu ve numune kimliklerinin korunması sağlanır.

## VeriSeq NIPT Assay Software v2

VeriSeq NIPT Assay Software v2 okumaları filtreler ve bir referans genoma hizalar. Gelişmiş bir algoritma, kromozom (segment) başına okuma yoğunluğunu belirler ve anöploidi ve parsiyel duplikasyon ve delesyonların tespitine ve ayırımına yardımcı olur. Yazılım aynı zamanda her bir numune için bir fetal fraksiyon tahmini oluşturur ve raporlar. Fetal fraksiyon verileri, anöploidi durumunu değerlendirmek için sekanslama sırasında oluşturulan diğer istatistiksel girdiler ve kapsam ile birleştirilir.

VeriSeq NIPT Assay Software v2, test hata oranlarının düşük olmasını sağlamak üzere bireyselleştirilmiş fetal anöploidi güven testi (iFACT) numune kalitesi skoru metriğini içermektedir. iFACT, düşük fetal fraksiyonlu numuneler için bile anöploidi veya parsiyel duplikasyon ve delesyon araması yapılabilmesini sağlamak için her bir numuneye ilişkin fetal fraksiyon tahminine göre testin yeterli sekanslama kapsamı oluşturup oluşturmadığını belirtir.<sup>12</sup> Bu dinamik eşik, VeriSeq NIPT Assay Software v2'nin düşük fetal fraksiyonlu numuneleri raporlamasına olanak sağlayarak düşük oranda test hatası görülmesini sağlar.<sup>1</sup>

## Rapor oluşturma

VeriSeq NIPT Test Yazılımı veri analizinin ardından her bir numunede test edilen kromozomlar için bir "Anöploidi Saptandı" veya "Anöploidi Saptanmadı" sonucu oluşturur. Parsiyel duplikasyon ve delesyon saptanırsa raporda genomdaki tam koordinatlar görüntülenir. Bilgiler, mevcut LIMS ile entegre edilebilen bir .CSV dosyasında çıktı olarak sunulur. Veriler, özel klinik rapor oluşturmak üzere kullanılabilir.

## Tamamen desteklenen uygulama

VeriSeq NIPT Solution v2, sorunsuz bir laboratuvar entegrasyonu için yetenekli bir Illumina Saha Servis Mühendisi tarafından gerçekleştirilen eksiksiz sistem kurulumu ve uygulamalı eğitim içerir. Bilgili Illumina bilim insanları laboratuvar personeline numune ekstraksiyonu, kitaplık hazırlama, sekanslama ve analiz boyunca adım adım kılavuzluk sunar (Tablo 6). Laboratuvarlar çalışmaya hazır duruma geldiğinde Illumina Teknik Destek ekibi tarafından sürekli destek sunulur.

Tablo 6: VeriSeq NIPT Solution v2 eğitimi

Konu	Ayrıntılar
VeriSeq NIPT Solution v2'ye Giriş	İş akışı ve analize ilişkin seminer genel bakışı <ul style="list-style-type: none"> <li>Yardımcı ekipman kılavuzu</li> <li>Sarf malzemeleri kılavuzu</li> <li>Kan alma protokolü</li> <li>Plazma izolasyonu protokolü</li> </ul>
Cihazı çalıştırma eğitimi	Yerinde eğitim <ul style="list-style-type: none"> <li>Kurulu cihaz gereklidir</li> </ul>
Tesis denetimi	Yerinde onay <ul style="list-style-type: none"> <li>Yardımcı ekipman kurulumu</li> <li>Gerekli reaktifler</li> <li>Sistem bileşenlerinin bağlantı durumu</li> </ul>
Yerinde eğitim	Test Illumina bilim insanı tarafından gerçekleştirilir <ul style="list-style-type: none"> <li>Bilinen performans özelliklerine sahip önceden test edilen plazma numuneleri (Illumina tarafından sağlanır)</li> <li>Plazma izolasyonundan cihazı çalıştırmaya ve veri analizine kadar test iş akışı özeti</li> <li>Veri analizi eğitimi</li> </ul>
Yerinde yeterlilik testi	Test müşteri tarafından gerçekleştirilir <ul style="list-style-type: none"> <li>Bilinen performans özelliklerine sahip önceden test edilen plazma numuneleri (Illumina tarafından sağlanır)</li> </ul>

## Özet

VeriSeq NIPT Solution v2 NIPT'nin erişilebilirliği, güvenilirliği ve gücü konusunda devrim yaratmaktadır. Artık laboratuvarlar düşük hata oranlarıyla hızlı, güvenilir, yüksek oranda doğru NIPT sonuçları elde etmek için NGS teknolojilerinden yararlanabilir.

## Daha fazla bilgi edinin

VeriSeq NIPT Solution v2, [www.illumina.com/VeriSeqNIPT](http://www.illumina.com/VeriSeqNIPT)

## Sipariş bilgileri

Ürün	Katalog no.
VeriSeq NIPT Sample Prep Kit (24 numune)	20025895
VeriSeq NIPT Sample Prep Kit (48 numune)	15066801
VeriSeq NIPT Sample Prep Kit (96 numune)	15066802
VeriSeq NIPT Assay Software v2	20047024
VeriSeq Onsite Server v2	20028403 20047000
Streck hücresiz DNA BCT (CE)	15073345
NextSeq 550Dx Cihazı	20005715
NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5, 75 döngü	20028870

## Kullanım amacı açıklaması

VeriSeq NIPT Solution v2, gebeliğin en az 10. haftasından itibaren hamile kadınlardaki maternal periferik tam kan numunelerinden genom geneli fetal genetik anomalilerin saptanması için tarama testi olarak kullanılması amaçlanan bir *in vitro* tanı testidir. VeriSeq NIPT Solution v2, tüm kromozomlar için anöploidi durumu ve tüm otozomlar için parsiyel duplikasyonları ve delesyonları saptamak üzere tüm genom dizileme işlevini kullanır. Test, cinsiyet kromozomu anöploidisinin (SCA) raporlanmasını talep etme seçeneği sunar. Bu ürün, tanı veya diğer gebelik yönetimi kararları için tek temel olarak kullanılmamalıdır.

## Referanslar

- 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
- 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
- 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
- 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
- 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)
- van der Meij KRM, Sistermans EA, Macville MVE, et al. [TRIDENT-2: National Implementation of Genome-wide Non-invasive Prenatal Testing as a First-Tier Screening Test in the Netherlands](#). *Am J Hum Genet*. 2019;105(6):1091-1101
- Van Den Bogaert, K, Lannoo, L, Brison, N. et al. [Outcome of publicly funded nationwide first-tier noninvasive prenatal screening](#). *Genet Med*. 2021;23:1137-1142
- Yaron Y. [The implications of non-invasive prenatal testing failures: a review of an under-discussed phenomenon](#). *Prenat Diagn*. 2016;36:391-396
- 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
- 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
- Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP, et al. [Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry](#). *Nature*. 2008;456(7218):53-59
- 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.

# illumina®

1.800.809.4566 ücretsiz (ABD) | +1.858.202.4566 tel  
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2021 Illumina, Inc. Tüm hakları saklıdır. Tüm ticari markalar Illumina, Inc. veya ilgili sahiplerinin malıdır. Özel ticari marka bilgileri için bkz. [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).  
M-APJ-00036 TUR v2.0