

VeriSeq™ NIPT Solution v2

Teljes körű, hozzáférhető,
teljesgenom-szekvenálási
vizsgálat

- A magzati kromoszómák részletes áttekintése több mint 2300 mintával végzett klinikai pontossági tanulmányban igazolt, széles körű genetikai lefedettséggel
- Megbízható vizsgálati teljesítmény¹ pontos, gyors eredményekkel és alacsony sikertelenségi aránnyal
- Egyszerű, skálázható IVD-megoldás, amely futtatásonként 24, 48 vagy 96 minta elemzésére alkalmas

illumina[®]

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 autoszómális aneuploiditások (RAA), a nemi kromoszómák bizonyos aneuploiditásai (SCA) és az összes autoszómát érintő ≥ 7 Mb méretű részleges duplikációk és deléciók kimutatására alkalmas.

A vizsgálati lehetőségek széles köre, a pontos eredmények és az alacsony sikertelenségi arány kombinációjával a VeriSeq NIPT Solution v2 a magzati kromoszómák átfogó szűrését biztosítja, amely lehetővé teszi a tájékozott, időben történő terhességi döntések meghozatalát.¹ A reagenseket, készülékeket és szoftvert tartalmazó, a telepítést és a képzést magában foglaló VeriSeq NIPT Solution v2 automatizált, megbízható megoldás az NIPT intézményen belüli elvégzésére (1. ábra és 1. táblázat).

A magzati kromoszómák teljes körű áttekintése

Számos, laboratóriumon belül elvégezhető NIPT-megoldás csak a 21-es, 18-as és 13-as kromoszóma triszómiájának szűrésére alkalmas, pedig ezek csak a lehetséges rendellenességek egy részét képviselik. Ezekkel a vizsgálatokkal nem mutathatók ki a ≥ 7 Mb méretű részleges duplikációk és deléciók, amelyek magzati rendellenességekkel és fejlődésbeli elmaradással járhatnak, és 0,12%-os incidenciával lépnek fel.⁴ 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.⁵

1 táblázat: A VeriSeq NIPT Solution v2 áttekintése

| Paraméter | Leírás |
|-------------------------|---|
| Módszer | Teljes genom szekvenálása |
| Könyvtár előkészítése | 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; az összes autoszómát érintő ≥ 7 Mb méretű részleges duplikációk és deléciók |

Megbízható vizsgálati teljesítmény

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

Pontos eredmények

A VeriSeq NIPT Solution v2 hitelesítve van a klinikai pontosság és megbízhatóság meghatározására. Klinikai validálási vizsgálat történt, amelybe bevonták azokat az



1. ábra: A teljes IVD NIPT munkamenet – A VeriSeq NIPT Solution v2 tartalmaz mindent az NGS segítségével végzett NIPT-hez, többek között a 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 kvalitatív eredményeket tartalmazó jelentés létrehozására alkalmas szoftvert.

2. táblázat: A VeriSeq NIPT Solution v2 klinikai teljesítménye¹

| | 21-es triszómia ^c | 18-as triszómia | 13-as triszómia | RAA ^d | ≥ 7 Mb méretű részleges duplikációk és deléciók | Bármilyen rendellenesség ^e |
|---|------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|---|---------------------------------------|
| Szenzitivitás ^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) |
| 2 oldalas 95%-os konfidencia-intervallum ^b | 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 ^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. 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 49 minta, amelyekben csak a teljes genomra kiterjedő szűrés által kimutatott rendellenesség állt fenn; az RAA-k és a részleges duplikációk és deléciók esetén a teljes genomra kiterjedő szűrés eredménye szerepel.
- b. A Wilson-pontszám módszerrel megállapított konfidencia-intervallum.
- c. A táblázatban nem szerepel hét ikerterhesség, amelyekben helyesen történt 21-es triszómia azonosítása.
- d. Az RAA nem tartalmazza a 21-es, 18-as és 13-as kromoszóma eltéréseit.
- e. A 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 állapottal¹

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

érintett terhességből származó mintákat, amelyeknél a klinikai eredmények rendelkezésre álltak, és a minta megfelelt a bevonási feltételeknek. A vizsgált csoport legalább 10 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 RAA-k, az összes autoszómát érintő ≥ 7 Mb méretű részleges duplikációk és deléciók, valamint az SCA-k eredménye; az eredményeket a tényleges klinikai állapottal hasonlították össze. Az eredmények magas szenzitivitást és specifitást mutattak a gyakori triszómiák, az RAA-k, a CNV-k és az összes autoszómát érintő ≥ 7 Mb méretű részleges duplikációk és deléciók tekintetében, a magzati nemre vonatkozó eredményének egyezését a klinikai eredménnyel, valamint az első próbálkozáskor alacsony, 1,2%-os sikertelenségi arányt (2. táblázat és 3. táblázat).¹

Gyors eredmények

A VeriSeq NIPT Solution v2 gyors, háromlépéses munkafolyamata pontos eredményt ad alig több mint egy nap alatt (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.

4. táblázat: A VeriSeq NIPT elvégzésének ideje alig több mint egy nap

| Lépés | Munkaidő | Teljes idő |
|---|------------|------------|
| Minták és könyvtárak előkészítése | ~ 2 óra | ~ 8 óra |
| Szekvenálás | ~ 15 perc | ~ 14 óra |
| Adatok elemzése és jelentés elkészítése | N.a. | ~ 4 óra |
| Teljes idő | ~ 2,25 óra | ~ 26 óra |

A tényleges munkaidő a laboratóriumi gyakorlattól függ, és eltérhet ettől; N.a.: nem alkalmazható.

Alacsony sikertelenségi arány

Az NIPT megbízhatósága és klinikai hasznossága szempontjából fontos tényező a sikertelen vizsgálatok aránya, amikor nem lehet eldönteni, hogy fennáll-e diszómia vagy aneuploiditás. Az NIPT-vizsgálat sikertelenségének aránya jelentősen különbözik a használt vizsgálati módszertől függően. A célzott megközelítést vagy egyetlen polimorfizmuson alapuló módszert alkalmazó vizsgálatoknál nagyobb a sikertelenség aránya.⁶ A VeriSeq NIPT Solution v2 teljesgenom-szekvenálás segítségével nagy mennyiségű adatot szolgáltat az összes kromoszómáról a pontosság romlása vagy a sikertelenség vagy az álpozitív eredmények gyakoriságának növelése nélkül. A klinikai validálási vizsgálatban az első próbálkozás alkalmával 1,2% volt a sikertelenségi arány.¹ A laboratóriumi gyakorlatban az eredeti vérvételből elegendő plazma marad a VeriSeq NIPT munkafolyamat megismétléséhez, ha szükséges.⁷ Egy klinikai validálási vizsgálatban megállapítottuk, hogy a második vérvétel utáni végleges sikertelenségi arány 0,4%.⁷

Egyszerű, skálázható IVD-megoldás

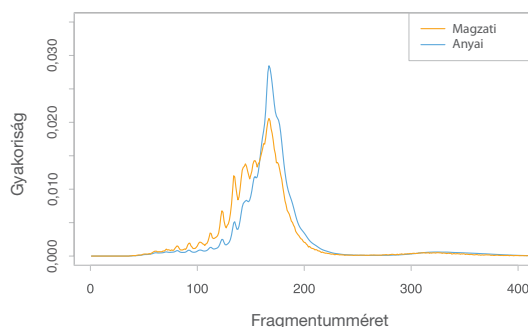
Az integrált VeriSeq NIPT Solution v2 tartalmaz mindent, ami szükséges a vizsgálat elvégzéséhez. Az automatizált munkafolyamat könnyen skálázható futtatásonként 24, 48 vagy 96 minta elemzéséhez, lehetővé téve a mintamennyiség hatékony és rugalmas kezelését. A laboratórium minden egyes minta esetén választhatja az alapvető vagy a teljes genomra kiterjedő szűrést.

Automatizált munkafolyamat

A teljesen automatizált VeriSeq NIPT vizsgálat egyszerű munkafolyamat, amely minimálisan csökkenti a technikusok munkaidejét és a hibák lehetőségét. A protokollhoz 7–10 ml anyai teljes vér szükséges, amelyet az ajánlott Streck vérvételi csőbe (BCT) kell levenni. Az optimalizált VeriSeq NIPT minta-előkészítési készletek tartalmazzák a cfDNS-ből a szekvenálási könyvtárak előkészítéséhez szükséges reagenseket és címkéket. 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 rendszernek kifejezetten az NIPT VeriSeq munkafolyamatra beállított változata segítségével. A felhasználóbarát VeriSeq NIPT Workflow Manager vezérli a minta-előkészítés minden lépését, beleértve a minta követését.

Szekvenálás

Az anyai vér különböző hosszúságú cfDNS-eket tartalmaz; a hosszabb beolvasások nagyobb mennyiségű anyai DNS-t, a rövidebbek pedig nagyobb mennyiségű magzati DNS-t tartalmaznak (2. ábra).⁸ A VeriSeq NIPT Solution v2 gyorsan és hatékonyan meghatározza a mintában lévő összes cfDNS-fragmentum hosszúságát, és az elemzési algoritmusában nagyobb súlyozással veszi figyelembe a rövidebb cfDNS-darabokat. Ehhez páros végű szekvenálást végez a NextSeq™ 550Dx rendszeren, amely nagy teljesítményű új generációs szekvenálást nyújt⁹ egy asztali rendszer megfizethetőségével (5. táblázat).



2. ábra: Az anyai és a magzati cfDNS méretének összehasonlítása – Páros végű szekvenálással a cfDNS-fragmentumok a méret alapján elkülöníthetők. A hosszabb fragmentumokban nagyobb az anyai DNS, a rövidebbekben pedig a magzati DNS mennyisége.

5. táblázat: Az NGS készülék teljesítménye

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

Helyi adatelemzés

Az adatok elemzése az erre kijelölt VeriSeq v2 Onsite Server számítógépen az IVD 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 v2

A VeriSeq NIPT Assay Software v2 a beolvasásokat szűri és a referenciagenomhoz illeszti. Egy speciális algoritmus megállapítja a kromoszómánkénti beolvasások sűrűségét (gyűjtőszámlálók), és segít az aneuploiditás és a részleges duplikációk és deléciók kimutatásában és elkülönítésében. 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 v2 Software részét képező különálló magzati aneuploiditási megbízhatósági vizsgálat (iFACT) létrehoz egy mintaminőségi pontszámot. Az iFACT azt mutatja meg, hogy a vizsgálati adatok szekvenálási lefedettsége – az illető minta becsült magzati frakciója figyelembevételével – elegendő-e az aneuploiditás vagy a részleges duplikációk és deléciók azonosításához, még alacsony magzati frakciójú minták esetén is.¹⁰ E dinamikus határérték segítségével a VeriSeq NIPT Assay v2 Software eredményt tud adni alacsony magzati frakciójú minták esetén is, ami alacsony sikertelenségi arányt eredményez.¹

Jelentés létrehozása

Az adatok elemzése után a VeriSeq NIPT Assay Software minden minta kromoszómái esetén az „aneuploiditás kimutatva” vagy a „nincs aneuploiditás kimutatva” eredményt adja. Részleges deléció vagy duplikáció kimutatása esetén a jelentésben megjelennek az eltérés pontos genomiális koordinátái. A rendszer az adatokat „.tab” fájlként adja ki, amely integrálható a laboratóriumi adatkezelő rendszerbe. Az adatok alapján egyénre szabott klinikai jelentés hozható létre.

A megvalósítás teljes körű támogatása

A laboratórium zökkenőmentes felkészítéséhez a VeriSeq NIPT Solution v2 magában foglalja a képesített Illumina-szervizmérnök 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 ügyfélszolgálatja 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 megvizsgálta, ismert teljesítményjellemzőkkel rendelkező, mesterséges plazmából álló minták (az Illumina szállítja) • Végigvezetés a vizsgálati munkafolyamaton a plazma elválasztásától a készülék működtetéséig és az adatok elemzéséig • Adatelemzési képzés |
| Helyszíni kompetencia-ellenőrzés | Az ügyfél végzi a vizsgálatot <ul style="list-style-type: none"> • Előzetesen megvizsgálta, ismert teljesítményjellemzőkkel rendelkező, mesterséges plazmából álló minták (az Illumina szállítja) |

Összefoglalás

A VeriSeq NIPT Solution v2 forradalmi változást hoz az NIPT hozzáférhetősége, megbízhatósága és teljesítménye terén. Mostantól a laboratóriumok ki tudják használni az NGS lehetőségeit a gyors, megbízható és pontos NIPT-eredmények készítésére.

Tudjon meg többet

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

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 NIPT Assay Software v2 | 20047024 |
| VeriSeq Onsite Server v2 | 20028403 20047000 |
| Streck sejtmentes DNS BCT (CE) | 15073345 |
| NextSeq 550Dx készülék | 20005715 |
| NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75 ciklus) | 20028870 |

Rendeltetés

A VeriSeq NIPT Solution v2 *in vitro* diagnosztikai vizsgálat, amely szűrővizsgálatként szolgál a genomszintű magzati genetikai rendellenességek felismerésére az anya periferiás teljes véréből, legkorábban a 10. gesztációs héten.

A VeriSeq NIPT Solution v2 a teljes genom szekvenálásával mindegyik autoszóma részleges deléciójának és duplikációjának, valamint 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.



1.800.809.4566: díjmentesen hívható szám
(az Amerikai Egyesült Államokból) | tel.: +1.858.202.4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2022 Illumina, Inc. Minden jog fenntartva. Minden védjegy az Illumina, Inc., illetve az adott tulajdonosok tulajdonát képezi. A márkanevekkel kapcsolatos információkat lásd a www.illumina.com/company/legal.html internetes oldalon.
M-GL-01319 HUN v1.0

Hivatkozások

- 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).
- 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. doi: 10.15761/OGR.1000157.
- 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.