

VeriSeq^{MC} NIPT Solution v2

Test de séquençage du
génomme entier, exhaustif
et accessible

- Vue d'ensemble des chromosomes fœtaux avec menu de test étendu, validé par une étude de précision clinique sur plus de 2 300 échantillons
- Test à la performance fiable¹ avec un niveau de précision élevé, des résultats rapides et un faible taux d'échec
- Solution de diagnostic *in vitro* (DIV) simple et adaptable qui permet de traiter 24, 48 ou 96 échantillons par analyse

illumina^{MD}

Introduction

Un dépistage prénatal non invasif (DPNI) fondé sur le séquençage de nouvelle génération (SNG) procure des résultats fiables pour le dépistage de l'aneuploïdie chromosomique fœtale dès que 10 semaines de gestation se sont écoulées à partir d'un simple tube de sang maternel^{2,3}. VeriSeq NIPT Solution v2 tire parti de la puissante technologie SNG 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), les aneuploïdies autosomiques rares (RAA, Rare Autosomal Aneuploidies), les aneuploïdies des chromosomes sexuels (SCA, Sex Chromosome Aneuploidies) ainsi que les délétions et les duplications partielles supérieures ou égales à 7 Mb.

En combinant un menu de test étendu, des résultats précis et un faible taux d'échec, VeriSeq NIPT Solution v2 offre un dépistage des chromosomes fœtaux complet, permettant ainsi une prise de décision éclairée et rapide en matière de grossesse¹. VeriSeq NIPT Solution v2, une solution 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).

Vue complète des chromosomes fœtaux

Plusieurs solutions de DPNI en laboratoire mettent l'accent sur le dépistage des trisomies des chromosomes 21, 18 et 13, alors que ces affections ne représentent qu'une partie des anomalies pouvant survenir. Ces tests ne détectent pas les délétions et les duplications partielles supérieures ou égales à 7 Mb qui peuvent être associées aux anomalies fœtales et au retard de développement et qui ont un taux de dépistage positif de 0,12 % avec le DPNI⁴. 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 in-utérin (RCIU), une disomie uniparentale (DUP), un travail prématuré spontané et une anomalie fœtale⁵. Le taux combiné de dépistage positif pour les RAA est de 0,34 %⁵, par rapport au taux de 0,30 % pour la trisomie 21^{6,7}.

Tableau 1 : VeriSeq NIPT Solution v2 en bref

Paramètre	Description
Méthode	Séquençage du génome entier
Préparation de la librairie	Sans PCR
Chimie	Séquençage à lecture appariée
Nbre d'échantillons	24, 48 ou 96 par lot
Durée du traitement	~ 26 heures
Nbre de techniciens	1
Échantillon	7 à 10 ml de sang maternel provenant d'un même tube
Analyse offerte	État d'aneuploïdie de tous les autosomes et chromosomes sexuels; délétions et duplications partielles \geq 7 Mb

Performance de test fiable

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

Précision élevée

La solution VeriSeq NIPT Solution v2 est validée pour déterminer la fiabilité et la précision clinique. 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'au moins 10 semaines, des échantillons à faible fraction fœtale et des grossesses gémellaires. L'étude a été réalisée en analysant, à l'aide de VeriSeq NIPT Solution v2, plus de 2 300 échantillons de sang maternel, pour lesquels les résultats de trisomie 21, de trisomie 18, de trisomie 13, de RAA, de délétions et de duplications partielles supérieures ou égales à 7 Mb et de SCA étaient connus. Les résultats ont été comparés aux données de référence clinique. Les résultats ont affiché une sensibilité et une spécificité élevées pour les trisomies courantes, les RAA, les délétions et les duplications partielles supérieures ou égales à 7 Mb, une concordance élevée entre les résultats de la classification du sexe du fœtus et les résultats cliniques, et un faible taux d'échec des échantillons au premier passage de 1,2 % (tableau 2 et tableau 3)¹.



Figure 1 : Flux de travail de DIV exhaustif pour le DPNI – La solution VeriSeq NIPT Solution v2 fournit tout ce dont vous avez besoin pour le DPNI par SNG, 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 un rapport qui fournit des résultats qualitatifs.

Tableau 2 : Performance clinique de VeriSeq NIPT Solution v2¹

	Trisomie 21 ^c	Trisomie 18	Trisomie 13	RAA ^d	Délétions et duplications partielles supérieures ou égales à 7 Mb	Toute anomalie ^e
Sensibilité ^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)
IC bilatéral à 95 % ^b	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 % ^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. La performance du dépistage de base fait l'objet de rapports pour la T21, la T18 et la T13 et exclut 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 les RAA et les délétions et les duplications partielles
- b. Intervalle de confiance (IC) fondé sur la méthode Wilson
- c. Sept grossesses gémeillaires dont les résultats pour la T21 ont été rapportés correctement ne sont pas affichées dans le tableau
- 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 des résultats de classification relatifs au sexe du fœtus de VeriSeq NIPT Solution v2 avec référence clinique¹

Résultats de VeriSeq NIPT Solution v2	Résultats de l'examen physique du nouveau-né		Résultats cytogénétiques					
	Féminin	Masculin	XX	XY	XO	XXX	XXY	XYX
Pourcentage de concordance	100 %	100 %	100 %	100 %	90,5 %	100 %	100 %	91,7 %

Résultats rapides

VeriSeq NIPT Solution v2 propose un flux de travail rapide 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 entre 24 et 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 une journée environ avec la solution VeriSeq NIPT

Étape	Durée de manipulation	Durée totale
Préparation d'échantillons et de librairies	~ 2 heures	~ 8 heures
Séquençage	~ 15 min	~ 14 heures
Analyse des données et production de rapports	S. O.	~ 4 heures
Durée totale	~ 2,25 heures	~ 26 heures

Les durées réelles dépendent des pratiques particulières des laboratoires et peuvent varier. 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 aneuploïdie, 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. Les tests qui s'appuient sur une approche ciblée ou une méthode polymorphe simple présentent des taux d'échec du test primaire plus élevés par rapport au SNG⁸. VeriSeq NIPT Solution v2 utilise le séquençage du génome entier pour créer suffisamment de données pour l'ensemble des chromosomes sans compromettre la précision ou accroître les taux d'échec et de résultats faux positifs. Dans l'étude de validation clinique, le taux d'échec au premier passage était de 1,2 %¹. Dans la pratique, en laboratoire, la quantité de plasma provenant du prélèvement sanguin initial est suffisante pour répéter le flux de travail de la solution VeriSeq NIPT, au besoin⁹. Il a été démontré qu'après répétition, le taux d'échec primaire est passé de 2 % à 1,3 % pour le même échantillon⁹.

Solution de DIV simple et adaptable

La solution VeriSeq NIPT Solution v2 intégrée fournit tout ce dont vous avez besoin pour analyser 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 des volumes d'échantillons. Le laboratoire peut choisir d'exécuter un dépistage de base ou du génome entier, par échantillon.

Flux de travail automatisé

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

Séquençage

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 ont tendance à être d'origine fœtale (figure 2)¹⁰. VeriSeq NIPT Solution v2 identifie rapidement et efficacement la longueur de tous les fragments d'ADN acellulaire à l'intérieur d'un seul échantillon et axe l'analyse sur les fragments d'ADN acellulaire plus courts à l'aide du séquençage à lecture appariée effectué sur le système NextSeq^{MC} 550Dx d'Illumina, qui offre la puissance du SNG à débit élevé¹¹ au coût abordable d'un système de paillasse (tableau 5).

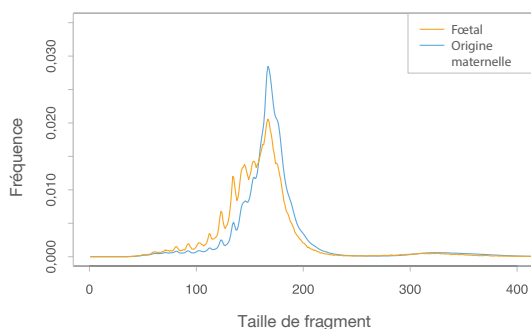


Figure 2 : Comparaison de la taille des fragments maternels et fœtaux de l'ADN acellulaire. Le séquençage à lecture appariée différencie les fragments d'ADN acellulaire d'après leur taille. Les fragments plus longs ont tendance à être d'origine maternelle alors que les plus courts, d'origine fœtale.

Tableau 5 : Exigences relatives à la performance du système SNG

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

Analyse sur site

L'analyse de données est réalisée sur un serveur sur site VeriSeq v2 Onsite Server dédié, avec le logiciel de DIV VeriSeq NIPT Assay Software v2. 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.

VeriSeq NIPT Assay Software v2

Le logiciel de test VeriSeq NIPT Assay Software v2 filtre et aligne les lectures en fonction d'un génome de référence. Un algorithme avancé détermine la densité de lecture par chromosome (segment) et permet de détecter et de différencier les aneuploïdies et les délétions et les duplications partielles. 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 utilisées en combinaison 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 NIPT Assay Software v2 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 le test génère une couverture de séquençage suffisante pour permettre la définition d'aneuploïdie et des délétions et des duplications partielles, même dans les échantillons à faible fraction fœtale¹². Ce seuil dynamique permet au logiciel de test VeriSeq NIPT Assay Software v2 de créer un rapport sur les échantillons à faible fraction fœtale, ce qui donne lieu à un faible taux d'échec aux tests¹.

Production de rapports

Après l'analyse de données, le logiciel de test VeriSeq NIPT Assay Software génère le résultat « Aneuploidy Detected » (aneuploïdie détectée) ou « No Aneuploidy Detected » (aucune aneuploïdie détectée) pour les chromosomes testés dans chacun des échantillons. Lorsqu'une duplication ou une délétion partielle est détectée, les coordonnées exactes du génome s'affichent dans le rapport. 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 personnalisé.

Prise en charge complète de la mise en œuvre

La solution VeriSeq NIPT Solution v2 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 facilement 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 de bibliothèques, 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 NIPT Solution v2

Thème	Détails
Introduction à la solution VeriSeq NIPT Solution v2	<ul style="list-style-type: none"> Aperçu du séminaire sur le flux de travail et l'analyse 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	<ul style="list-style-type: none"> Formation sur les lieux Installation de l'instrument requise
Inspection du site	<ul style="list-style-type: none"> Confirmation sur les lieux Installation de l'équipement auxiliaire Réactifs requis Connectivité des composants du système
Formation sur les lieux	<ul style="list-style-type: none"> Test effectué par un scientifique d'Illumina Échantillons de plasma déjà testés dont les caractéristiques de performance sont connues (Illumina les fournit) Révision structurée 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	<ul style="list-style-type: none"> Test effectué par le client Échantillons de plasma déjà testés dont les caractéristiques de performance sont connues (Illumina les fournit)

Récapitulatif

VeriSeq NIPT Solution v2 révolutionne l'accès au DPNI, sa fiabilité et sa puissance. Désormais, les laboratoires peuvent tirer parti du SNG pour obtenir rapidement des résultats de DPNI fiables et d'une grande précision, avec un faible taux d'échec.

En savoir plus

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

Renseignements relatifs à la commande

Produit	N° de référence
VeriSeq NIPT Sample Prep Kit (24 échantillons)	20025895
VeriSeq NIPT Sample Prep Kit (48 échantillons)	15066801
VeriSeq NIPT Sample Prep Kit (96 échantillons)	15066802
VeriSeq NIPT Assay Software v2	20047024
VeriSeq Onsite Server v2	20028403 20047000
Streck cell-free DNA BCT (CE)	15073345
Instrument NextSeq 550Dx	20005715
NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5, 75 cycles	20028870

Déclaration relative à l'utilisation prévue

VeriSeq NIPT Solution v2 est un test diagnostique *in vitro* conçu pour être utilisé comme un test de dépistage pour détecter les anomalies génétiques fœtales de génome entier à partir d'échantillons de sang entier périphérique maternel provenant de femmes enceintes d'au moins 10 semaines. VeriSeq NIPT Solution v2 utilise le séquençage du génome entier pour détecter les délétions et les duplications partielles de tous les cas d'autosomie et d'aneuploïdies dans tous les chromosomes. Le test comporte une option permettant de demander le signalement de l'aneuploïdie des chromosomes sexuels (SCA). Un diagnostic ou une décision concernant une grossesse ne doit pas être uniquement fondé sur les résultats obtenus par l'utilisation de ce produit.

Références

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. 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
7. 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
8. Yaron Y. [The implications of non-invasive prenatal testing failures: a review of an under-discussed phenomenon](#). *Prenat Diagn*. 2016;36:391-396
9. 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
10. 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
11. Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP, et al. [Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry](#). *Nature*. 2008;456(7218):53-59
12. 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^{MD}

Numéro sans frais aux États-Unis : + (1) 800 809 4566 | Téléphone : + (1) 858 202 4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2021 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 le lien www.illumina.com/company/legal.html.
M-APJ-00036 FRA v2.0