

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 nagy pontosságú, 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 prenatális 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 bizonyos aneuploiditásai (SCA) és a ≥ 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 legátfogóbb szűrését biztosítja, amely lehetővé teszi megalapozott, időben történő terhességi döntések meghozatalát.¹ A reagenseket, készülékeket és szoftvert tartalmazó, a telepítést és a képzést magában foglaló VeriSeq NIPT Solution v2 rendszer automatizált, megbízható megoldás az NIPT intézményen belüli elvégzésére (1. ábra és 1. táblázat).

A magzati kromoszómák teljes körű áttekintése

Számos laboratóriumban 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 mutatható ki a ≥ 7 Mb méretű részleges duplikációk és deléciók, amelyek összefüggésben állnak magzati rendellenességekkel és fejlődésbeli elmaradással, és NIPT-vel a pozitív szűrési eredményeinek aránya 0,12%.⁴ E vizsgálatokkal ugyancsak elmarad az RAA-k kimutatása, amelyek nemkívánatos eredményekkel, többek között vetéléssel, intrauterin növekedési visszamaradással (IUGR), uniparentális diszómiával (UPD), spontán koraszüléssel és magzati rendellenességekkel járhatnak.⁵ Az RAA-k összesített pozitív szűrési eredményeinek aránya 0,34%,⁵ összehasonlításként: a 21-es triszómia aránya 0,30%.^{6,7}

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; ≥ 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.

Kiváló pontosság

A VeriSeq NIPT Solution v2 hitelesítve van a klinikai pontosság és megbízhatóság meghatározására. A vizsgálatba bevonták azokat az 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, a ≥ 7 Mb méretű részleges duplikációk és deléciók és 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 a ≥ 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



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 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, amelyben 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%

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	NA	~ 4 óra
Teljes idő	~ 2,25 óra	~ 26 óra

A tényleges munkaidő a laboratóriumi gyakorlatról függ, és eltérhet ettől; NA: nem alkalmazható

Alacsony sikertelenségi arány

Az NIPT megbízhatósága és klinikai hasznossága szempontjából fontos tényező a sikertelen vizsgálatok aránya, amikor nem lehet eldönteni, hogy diszómia vagy aneuploidia áll-e fenn. Az NIPT-vizsgálat sikertelenségének aránya jelentősen különbözik a használt vizsgálati módszertől függően. A célzott megközelítést alkalmazó vizsgálatok és az egyszeres polimorfias módszer esetén nagyobb az első próbálkozásra sikertelen eredmények aránya, mint az NGS esetén.⁸ A VeriSeq NIPT Solution v2 teljesgenom-szekvenálás segítségével nagy mennyiségű adatot szolgáltat az összes kromoszómáról a pontosság rontása vagy a sikertelenség vagy az álpozitív eredmények gyakoriságának növelése nélkül. A klinikai hitelesítési vizsgálatban az első próbálkozásra sikertelen eredmények aránya 1,2% volt.¹ A laboratóriumi gyakorlatban az eredeti vérvételből elegendő plazma marad, hogy szükség esetén meg lehessen ismételni a VeriSeq NIPT munkafolyamatot.⁹ Kimutatták, hogy az első vizsgálat elérése után 2%-os sikertelenségi arány az ugyanabból a mintából végzett ismétlés után 2%-ról 1,3%-ra csökkent.⁹

Egyszerű, skálázható IVD-megoldás

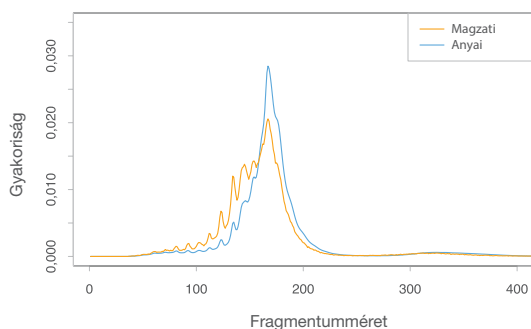
Az integrált VeriSeq NIPT Solution v2 tartalmaz mindent, ami szükséges a vizsgálat elvégzéséhez. Az automatizált munkafolyamat könnyen skálázható futtatásonként 24, 48 vagy 96 minta elemzéséhez, lehetővé téve a mintamennyiség hatékony és rugalmas kezelését. A laboratórium minden egyes minta esetén választhatja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

Automatizált munkafolyamat

A teljesen automatizált VeriSeq NIPT vizsgálat egyszerű munkafolyamat, amely minimálisra 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 darabok inkább anyai eredetűek, a rövidebbek pedig inkább a magzati származnak (2. ábra).¹⁰ A VeriSeq NIPT Solution v2 gyorsan és hatékonyan meghatározza a mintában lévő összes cfDNS hosszúságát, és a rövidebb cfDNS-ek elemzésére összpontosít, páros végű szekvenálással, az Illumina NextSeq™ 550Dx rendszerrel, amely nagy teljesítményű NGS-t¹¹ nyújt egy asztali rendszer megfizethetőségével (5. táblázat).



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

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 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 (szegmensenkénti) beolvasások sűrűségét, 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, 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.¹² E dinamikus határérték segítségével a VeriSeq NIPT Assay Software v2 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 duplikációk és deléciók kimutatása esetén a jelentésben megjelennek az eltérés pontos genomiai 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 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 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 • Vértvételi protokoll • Plazmaelválasztási protokoll
A készülék használatára vonatkozó képzés	Képzés a használat helyén <ul style="list-style-type: none"> • Telepített készülék szükséges
Helyszíni 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 megvizsgál, 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 végzi a vizsgálatot <ul style="list-style-type: none"> • Előzetesen megvizsgál, ismert teljesítményjellemzőkkel rendelkező plazmaminták (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 igen 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 vérből, legkorábban a 10. gesztációs héten. A VeriSeq NIPT Solution v2 a teljes genom szekvenálásával mindegyik autoszóma részleges delécióinak és duplikációinak, 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.

Hivatkozások

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®

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

© 2021 Illumina, Inc. Minden jog fenntartva. Minden védjegy az Illumina, Inc., illetve az adott tulajdonosok tulajdonát képezi. A védjegyekkel kapcsolatos információkat lásd a www.illumina.com/company/legal.html oldalon.
M-APJ-00036 HUN v2.0