

VeriSeq™ NIPT Solution v2

Ucelený přístupný rozbor
sekvenování celého genomu

- Komplexní pohled na chromozomy plodu se širokou nabídkou ověřenou studií klinické přesnosti na více než 2300 vzorcích
- Ověřená účinnost testů¹ s vysoce přesnými, rychlými výsledky a nízkou chybovostí
- Jednoduché škálovatelné řešení diagnostiky *in vitro* umožňující analyzovat v každém běhu 24, 48 nebo 96 vzorků

illumina®

Úvod

Neinvasivní prenatalní testování (NIPT) prováděné pomocí sekvenování nové generace (NGS) poskytuje spolehlivé výsledky vyšetření aneuploidií chromozomů plodu již v 10. týdnu těhotenství, a to z jediné zkumavky krve matky.^{2,3} VeriSeq NIPT Solution v2 s využitím výkonné technologie Illumina NGS přináší do NIPT výhody sekvenování celého genomu (WGS) a rozšiřuje možnosti nabídky testů o běžné aneuploidie (trizomie chromozomů 21, 18 a 13), vzácné autozomální aneuploidie (RAA), vybrané aneuploidie pohlavních chromozomů (SCA) a částečné delece a duplikace, označované jako variace počtu kopií (CNV), o velikosti ≥ 7 Mb.

Díky kombinaci široké nabídky testů, přesných výsledků a nízké chybovosti nabízí řešení VeriSeq NIPT Solution v2 nejkompaktnější vyšetření chromozomů plodu, a umožňuje tak informovaná a včasná rozhodnutí týkající se těhotenství.¹ Díky poskytnutí reagentů, přístrojů, softwaru, instalace a školení představuje řešení VeriSeq NIPT Solution v2 automatizované a spolehlivé řešení pro provádění vlastního NIPT (viz [Obrázek 1](#) a [Tabulka 1](#)).

Úplný pohled na chromozomy plodu

Řada řešení pro laboratorní NIPT se zaměřuje na vyšetření trizomií u chromozomů 21, 18 a 13, ale tyto stavy představují pouze část možných anomálií. V těchto testech budou chybět CNV o velikosti ≥ 7 Mb, které mohou být spojeny s anomáliemi nebo opožděním vývoje plodu, a míra pozitivní vyšetření u NIPT je 0,12 %.⁴ Dále budou v těchto testech chybět těhotenství s vyšetřením pozitivním na RAA, které mohou mít nežádoucí důsledky včetně potratu, intrauterinního zpomalení růstu (IUGR), uniparentální dizomie (UPD), spontánního předčasného porodu, anomálií plodu a dalších.⁵ Kombinovaná míra pozitivní na RAA při vyšetření je 0,34 %⁵ oproti 0,30 % u trizomie 21.^{6,7}

Tabulka 1: VeriSeq NIPT Solution v2 v kostce

Parametr	Popis
Metoda	Sekvenování celého genomu
Příprava knihovny	Bez PCR
Chemie	Sekvenování párových konců
Počet vzorků	24, 48 nebo 96 v jedné dávce
Čas do výkazu	~26 hodin
Počet operátorů	1
Vzorek	7–10 ml z jedné zkumavky krve matky
Nabízená analýza	Stav aneuploidie všech autozomů a pohlavních chromozomů; CNV ≥ 7 Mb

Ověřená účinnost testů

Přesností výsledků, dobou reakce a chybovostí představuje VeriSeq NIPT Solution v2 vynikající řešení.

Vysoká přesnost

Řešení VeriSeq NIPT Solution v2 je ověřeno k zajištění klinické přesnosti a spolehlivosti. Vzorky z postižených těhotenství byly způsobilé pro testování, pokud byly k dispozici klinické závěry a splňovaly kritéria pro zařazení vzorků. Kohortu tvořila těhotenství o délce alespoň 10 týdnů, vzorky s nízkou fetální frakcí a dvojčetná těhotenství. Při studii bylo vyšetřeno více než 2300 vzorků od matek, u nichž byly známy trizomie chromozomu 21, trizomie chromozomu 18, trizomie chromozomu 13, RAA, CNV ≥ 7 Mb a SCA. Výsledky zjištěné rozбором VeriSeq NIPT Solution v2 byly porovnány s klinickými referenčními standardními závěry. Rozbor VeriSeq NIPT Solution v2 prokázal vysokou citlivost a specifitu u běžných trizomií,



Obrázek 1: Celý pracovní postup IVD NIPT – VeriSeq NIPT Solution v2 poskytuje vše, co je potřeba k provedení NIPT pomocí NGS, včetně reagentů pro extrakci DNA, přípravu knihovny a sekvenování, vybavení pro automatizaci přípravy knihovny a sekvenování se softwarem Workflow Manager, lokálního serveru pro bezpečné ukládání a analýzu dat a softwaru pro analýzu dat, který generuje výkazy s kvalitativními výsledky.

Tabulka 2: Klinická účinnost řešení VeriSeq NIPT Solution v2¹

	Trizomie chromozomu 21 ^c	Trizomie chromozomu 18	Trizomie chromozomu 13	RAA ^d	CNV ≥ 7 Mb	Libovolná anomálie ^e
Citlivost ^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)
Oboustranný 95% interval spolehlivosti ^b	97,1 %, 100 %	91,4 %, 100 %	87,1 %, 100 %	82,3 %, 99,4 %	55,3 %, 86,8 %	92,7 %, 97,3 %
Specifická	99,90 % (1982/1984)	99,90 % (1995/1997)	99,90 % (2000/2002)	99,80 % (2001/2005)	99,80 % (2000/2004)	99,34 % (1954/1967)
Oboustranný 95% interval spolehlivosti ^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. Účinnost základního vyšetření je vykázána pro T21, T18 a T13 a nezahrnuje 16 vzorků se známým mozaicismem a 49 vzorků postižených anomáliemi pouze u celogenomového vyšetření; účinnost celogenomového vyšetření je vykázána pro RAA a částečné duplikace a delecce.
b. Interval spolehlivosti založený na Wilsonově metodě hodnocení.
c. Sedm dvojčetných těhotenství správně vykázaných jako T21 není uvedeno.
d. RAA nezahrnuje chromozomy 21, 18 a 13.
e. Každá případná anomálie zahrnuje vzorky ze základního a celogenomového vyšetření SCA.

Tabulka 3: Shoda klasifikace pohlaví plodu pomocí VeriSeq NIPT Solution v2 s klinickou referencí¹

Výsledky VeriSeq NIPT Solution v2	Výsledek fyzického vyšetření novorozence		Cytogenetické výsledky					
	Ženské pohlaví	Mužské pohlaví	XX	XY	XO	XXX	XXY	XYY
Procentní shoda	100 %	100 %	100 %	100 %	90,5 %	100 %	100 %	91,7 %

RAA, CNV ≥ 7 Mb, vysokou shodu s klinickými závěry u klasifikace pohlaví plodu a nízkou chybovost vzorků při prvním průchodu 1,2 % (viz [Tabulka 2](#) a [Tabulka 3](#)).¹

Rychlé výsledky

Řešení VeriSeq NIPT Solution v2 nabízí pro NIPT rychlý třístupňový pracovní postup, který generuje přesné výsledky již za o něco déle než jeden den (viz [Tabulka 4](#)). Využitím jednoduchého automatizovaného pracovního postupu může jeden operátor analyzovat 24–96 vzorků za méně než 8 hodin s minimem pracovního času. Cílené sekvenování a čipové metody mívají delší laboratorní protokoly, což vyžaduje více pracovního času.

Tabulka 4: VeriSeq NIPT trvá o něco málo déle než jeden den

Krok	Pracovní čas	Celkový čas
Příprava vzorků a knihovny	~2 hodiny	~8 hodin
Sekvenování	~15 minut	~14 hodin
Analýza dat a generování výkazu	N/A	~4 hodiny
Celkový čas	~2,25 hodiny	~26 hodin

Skutečné časy závisí na praxi jednotlivých laboratoří a mohou se lišit.
N/A = nepoužívá se.

Nízká chybovost testů

Pokud nelze provést přiřazení žádné dizomie nebo aneuploidie, je chybovost testů důležitým faktorem spolehlivosti a klinické využitelnosti NIPT. Chybovost testů se může výrazně lišit v závislosti na použitém testu. Testy, které používají cílený přístup nebo metodu jednonukleotidového polymorfismu (SNP), vykazují vyšší chybovost primárního testu než NGS.⁸ Řešení VeriSeq NIPT Solution v2 zajišťuje pomocí WGS dostatek dat ze všech chromozomů, aniž by došlo k ovlivnění přesnosti nebo zvýšení chybovosti či množství falešně pozitivních výsledků. V ověřovací klinické studii byla chybovost při prvním průchodu 1,2 %.¹ V laboratorní praxi bude k dispozici dostatek plazmy z prvního odběru krve, aby se pracovní postup VeriSeq NIPT mohl v případě potřeby zopakovat.⁹ Opakované testování u stejného vzorku prokázalo snížení míry primárního selhání z 2 % na 1,3 %.⁹

Jednoduché a škálovatelné řešení IVD

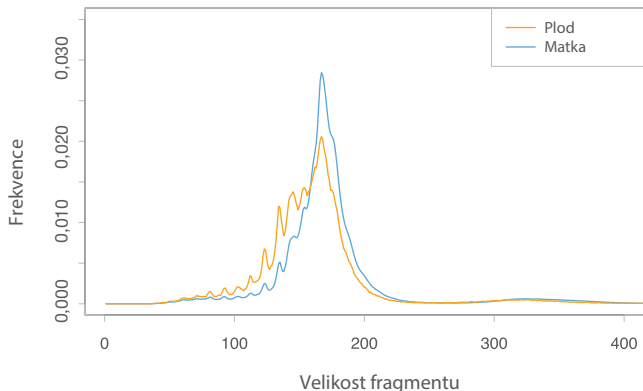
Integrované řešení VeriSeq NIPT Solution v2 poskytuje vše, co je potřeba k provedení rozboru. Automatizovaný pracovní postup se snadno škáluje na analýzu 24, 48 nebo 96 vzorků v jednom běhu, což umožňuje efektivitu a flexibilitu při správě objemů vzorků. Pro každý vzorek lze zvolit základní nebo celogenomové vyšetření.

Automatizovaný pracovní postup

Plně automatizovaný rozbor VeriSeq NIPT poskytuje jednoduchý pracovní postup, který minimalizuje pracovní čas a možnost vzniku chyb. Protokol vyžaduje 7–10 ml periferní plně krve matky, odebrané do zkumavky Streck Blood Collect Tube (BCT). Optimalizované sady pro přípravu vzorků VeriSeq NIPT obsahují reagenty a štítky pro přípravu sekvenačních knihoven z volné mimobuněčné DNA (cfDNA). Izolace plazmy, extrakce cfDNA a příprava knihovny bez PCR, včetně tvorby kvantifikačních desek, kvantifikace knihovny a vyváření fondů knihoven jsou automatizovány v systému VeriSeq NIPT Microlab STAR, což je systém Hamilton Microlab STAR speciálně zákaznický konfigurovaný pro použití v pracovním postupu VeriSeq NIPT. Všechny aspekty přípravy vzorků včetně jejich sledování řídí uživatelsky přívětivý nástroj VeriSeq NIPT Workflow Manager.

Sekvenování

Vzorek krve matky obsahuje fragmenty cfDNA různých délek; delší bývají mateřské, kratší obvykle pocházejí z plodu (viz [Obrázek 2](#)).¹⁰ VeriSeq NIPT Solution v2 rychle a efektivně identifikuje délky všech fragmentů cfDNA v jednom vzorku a zaměří analýzu na kratší cfDNA pomocí sekvenování párových konců prováděného na systému Illumina NextSeq™ 550Dx, která spojuje účinnost vysoce výkonného NGS¹¹ a dostupnost stolního systému (viz [Tabulka 5](#)).



Obrázek 2: Porovnání velikostí fragmentů cfDNA matky a plodu – Sekvenování párových konců rozlišuje fragmenty cfDNA na základě velikosti. Delší fragmenty mívají původ u matky, kratší obvykle pocházejí od plodu.

Tabulka 5: Požadavky na výkon přístroje pro NGS

Parametr	Specifikace
Délka čtení	2 × 36 bázových párů
Typ souboru sekvenování	.BCL
Výstupní data sekvenování	400 milionů čtení
Doba běhu	~14 hodin
Multiplexování	24 nebo 48 vzorků v každém běhu

Analýza na místě

Analýza dat je prováděna na vyhrazeném serveru VeriSeq v2 Onsite Server vybaveném softwarem IVD VeriSeq NIPT Assay Software v2. Server zpracovává data sekvenování automaticky. Více dávek vzorků se může pro analýzu na jednom serveru zařadit do fronty. Data není potřeba k analýze nikam posílat, což šetří čas a chrání identitu vzorků.

VeriSeq NIPT Assay Software v2

VeriSeq NIPT Assay Software v2 filtruje a zarovnává čtení podle referenčního genomu. Pokročilý algoritmus určuje hustotu čtení pro každý chromozom (segment) a pomáhá při detekci a rozlišování aneuploidii a CNV. Software také pro každý vzorek generuje a vykazuje odhad fetální frakce. Údaje fetální frakce jsou zkombinovány s pokrytím a dalšími statistickými vstupy vygenerovanými během sekvenování a je vyhodnocen stav aneuploidie.

Pro zajištění nízké chybovosti testů obsahuje VeriSeq NIPT Assay Software v2 metriku hodnocení kvality vzorku pomocí individualizované zkoušky iFACT (individualized Fetal Aneuploidy Confidence Test). Zkouška iFACT určuje, jestli rozbor vygeneroval dostatečné pokrytí sekvenování vzhledem k odhadu fetální frakce pro každý vzorek, aby bylo možné provést přiřazení aneuploidie nebo částečné duplikace a delece, a to i pro vzorky s nízkou fetální frakcí.¹² Tato dynamická mezní hodnota umožňuje softwaru VeriSeq NIPT Assay Software v2 hlásit vzorky s nízkou fetální frakcí, což zajišťuje nízkou chybovost testu.¹

Generování výkazu

Po analýze dat vygeneruje VeriSeq NIPT Assay Software pro chromozomy testované v jednotlivých vzorcích výsledek „Aneuploidy Detected“ (Zjištěna aneuploidie) nebo „No Aneuploidy Detected“ (Aneuploidie nezjištěna). Pokud je zjištěna CNV, ve výkazu se zobrazí přesné souřadnice v genomu. Data jsou poskytována ve formě souboru „.CSV“, který lze integrovat se stávajícím LIMS a vytvořit tak vlastní klinickou zprávu.

Plně podporovaná implementace

Pro snadnou integraci v laboratoři je součástí řešení VeriSeq NIPT Solution v2 kompletní instalace systému kvalifikovaným servisním technikem společnosti Illumina a školení na místě. Odborníci společnosti Illumina vysvětlí personálu laboratoře krok za krokem extrakci vzorků, přípravu knihovny, sekvenování a analýzu (viz [Tabulka 6](#)). Po zprovoznění všech systémů je zajištěna trvalá podpora ze strany týmu technické podpory společnosti Illumina.

Tabulka 6: Školení VeriSeq NIPT Solution v2

Téma	Podrobnosti
Úvod do řešení VeriSeq NIPT Solution v2	Seminář: přehled pracovního postupu a analýzy <ul style="list-style-type: none"> Průvodce pomocným vybavením Průvodce spotřebním materiálem Protokol odběru krve Protokol izolace plazmy
Školení obsluhy přístrojů	Školení na místě <ul style="list-style-type: none"> Vyžaduje nainstalovaný přístroj
Kontrola pracoviště	Ověření pracoviště <ul style="list-style-type: none"> Instalace pomocného vybavení Potřebné reagensie Připojení součástí systému
Školení na místě	Rozbor provedený odborníkem společnosti Illumina <ul style="list-style-type: none"> Předem otestované vzorky plazmy se známými charakteristikami (poskytne Illumina) Průvodce pracovním postupem rozboru od izolace plazmy přes obsluhu přístrojů k analýze dat Školení analýzy dat
Zkouška způsobilosti na místě	Rozbor provedený zákazníkem <ul style="list-style-type: none"> Předem otestované vzorky plazmy se známými charakteristikami (poskytne Illumina)

Shrnutí

VeriSeq NIPT Solution v2 přináší revoluční změnu z hlediska dostupnosti, spolehlivosti a výkonnosti NIPT. Laboratoře teď mohou využít NGS k rychlému získání spolehlivých a vysoce přesných výsledků NIPT s nízkou chybovostí.

Další informace

[Illumina VeriSeq NIPT Solution v2](#)

Údaje pro objednání

Produkt	Katalogové číslo
VeriSeq NIPT Sample Prep Kit (24 vzorků)	20025895
VeriSeq NIPT Sample Prep Kit (48 vzorků)	15066801
VeriSeq NIPT Sample Prep Kit (96 vzorků)	15066802
VeriSeq NIPT Assay Software v2	20047024
VeriSeq Onsite Server v2	20047000 20101927
Streck cell-free DNA BCT (CE)	15073345
NextSeq 550Dx Instrument	20005715
NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5, 75 cyklů	20028870

Prohlášení o zamýšleném použití

VeriSeq NIPT Solution v2 je diagnostický test *in vitro* určený k vyšetření za účelem zjištění celogenomových genetických anomálií plodu ze vzorků periferní plné krve matky v nejméně 10. týdnu těhotenství. Test VeriSeq NIPT Solution v2 používá WGS k detekci částečných duplikací a delecí pro všechny autozomy a stavy aneuploidie pro všechny chromozomy. Test nabízí možnost požádat o hlášení SCA. Tento produkt se nesmí používat jako jediný základ pro diagnostiku a další rozhodnutí týkající se řízení těhotenství.

Test VeriSeq NIPT Solution v2 má tyto součásti: software VeriSeq NIPT Workflow Manager v2 pro systém VeriSeq NIPT Microlab STAR, sady pro přípravné zpracování vzorků VeriSeq NIPT Sample Prep Kits a místní server VeriSeq Onsite Server v2 se softwarem VeriSeq NIPT Assay Software v2. Test VeriSeq NIPT Solution v2 je určen k použití se sekvencí nové generace.

Literatura

- 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*. Londýn, Spojené království: 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 feto-placental disease](#). *Sci Transl Med*. 2017;9(405)
- van der Meij KRM, Siermans 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.



Bezplatná linka (USA) 1 800 809 4566 | Tel. +1 858 202 4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2024 Illumina, Inc. Všechna práva vyhrazena. Všechny ochranné známky jsou vlastnictvím společnosti Illumina, Inc. nebo jejich příslušných vlastníků. Podrobné informace o ochranných známkách naleznete na adrese www.illumina.com/company/legal.html.
M-APJ-00036 CZE v3.0